ANNÉE SCOLAIRE
1970-1971
N° d'Ordre: 8

THÈSES

PRÉSENTÉES

A L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'État)

PAR

Jean-Bernard FOURTILLAN

Ingénieur Chimiste E. N. S. C. B.
Licencié ès Sciences physiques

PHARMACIEN
Assistant Chargé de cours à la Faculté de Pharmacie de Bordeaux
Interne des Hôpitaux de Bordeaux

né le 7 Octobre 1943 à BORDEAUX (Gironde)

1ere Thèse: **Étude chimique et pharmacodynamique de quelques dérivés organosiliciés hydrosolubles.**

2eme Thèse: **La chimiothérapie antilépreuse.**

Présentées et Soutenues publiquement le Vendredi 1er Octobre 1971
devant la Commission d'Examen

MM. P. MESNARD, Professeur . . . . . PRÉSIDENT
R. GOLSE, Professeur . . . . .
H. BRICAUD, Professeur . . . . . } EXAMINATEURS
R. CROCKETT, Professeur . . . . . } EXAMINATEURS
G. DEVAUX, Professeur . . . . . } EXAMINATEURS
R. LALANDE, Professeur à l'Université de Bordeaux I . . . . } EXAMINATEURS

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543911_0052

ANNÉE SCOLAIRE
1970-1971
N° d'Ordre : 8

THÈSES

PRÉSENTÉES

A L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'État)

PAR

Jean-Bernard FOURTILLAN

Ingénieur Chimiste E. N. S. C. B.
Licencié ès Sciences physiques

PHARMACIEN
Assistant Chargé de cours à la Faculté de Pharmacie de Bordeaux
Interne des Hôpitaux de Bordeaux

né le 7 Octobre 1943 à BORDEAUX (Gironde)

1ere Thèse : Étude chimique et pharmacodynamique de quelques dérivés organosiliciés hydrosolubles.

2eme Thèse : La chimiothérapie antilépreuse.

Présentées et Soutenues publiquement le Vendredi 1er Octobre 1971
devant la Commission d'Examen

MM. P. MESNARD, Professeur . . . . . PRÉSIDENT
R. GOLSE, Professeur . . . . . }
H. BRICAUD, Professeur . . . . . }
R. CROCKETT, Professeur . . . . . } EXAMINATEURS
G. DEVAUX, Professeur . . . . . }
R. LALANDE, Professeur à l'Université de Bordeaux I . . . . }

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MA FEMME et MES ENFANTS

A MES PARENTS

A TOUTE MA FAMILLE

Avec toute ma tendresse.

A TOUS MES AMIS

A MES JUGES

Monsieur le Professeur R. LALANDE

Professeur de Chimie organique à l'Université de Bordeaux I
Directeur de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Bordeaux
Chevalier des Palmes académiques
Lauréat de la Faculté des Sciences
Prix Adrian

Vous me faites l'honneur de juger le travail d'un de vos anciens élèves qui vous remercie d'avoir mis à sa disposition le service de Chimie Appliquée de l'Université de Bordeaux I.

Monsieur le Professeur G. DEVAUX

Professeur sans Chaire à l'Université de Bordeaux II
Licencié ès Sciences

Nous connaissons tous vos compétences en matière de Chimiothérapie.

Soyez remercié pour l'intérêt que vous manifestez à l'égard de nos prospections dans ce domaine.

Monsieur le Professeur R. CROCKETT

Professeur de Biochimie pharmaceutique
à l'Université de Bordeaux II
Ancien Assistant des Hôpitaux
Attaché des Hôpitaux
Collaborateur scientifique de l'INSERM

Vous êtes à l'origine de mes fonctions tant hospitalières qu'universitaires.

Au cours de nos années d'étroite collaboration vous avez su me transmettre toutes les connaissances biologiques qui ont permis, sous votre précieuse conduite, la réalisation d'une importante partie de ce travail.

Je souhaite voir se poursuivre cette collaboration en raison du respect et de la sympathie que j'éprouve à votre égard.

Monsieur le Professeur R. GOLSE

Professeur de Chimie générale et minérale
Docteur ès Sciences physiques
Pharmacien des Hôpitaux
Officier des Palmes académiques

Je vous remercie pour la bienveillante compréhension et la confiance que vous n'avez cessé de me témoigner.

Recevez l'assurance de mon respectueux et sincère attachement.

Monsieur le Professeur H. BRICAUD

Président de l'Université de Bordeaux II
Professeur de Médecine générale (Cardiologie)
Médecin des Hôpitaux, Chef de Service
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier des Palmes académiques

Vous m'avez accueilli avec la plus grande sollicitude, dans votre service de Cardiologie en tant qu'interne en pharmacie. Cette fonction m'a permis de pénétrer dans le monde si enrichissant de la recherche médicale au sein de l'Unité U_8 INSERM de Cardiologie dont vous assurez si magistralement la direction scientifique. Vous avez mis à ma disposition, très largement, outre le matériel technique et animal sans lequel ces recherches n'auraient pu trouver d'application pharmacologique, l'aide précieuse et efficace de vos dévoués collaborateurs.

De votre côté, malgré des charges écrasantes, vous avez apporté un concours personnel dans la réalisation et l'exploitation des résultats biologiques.

Par ailleurs, vous me faites le grand honneur de juger ce modeste travail.

Pour ces multiples raisons, soyez assuré de ma profonde gratitude, de mon très durable attachement ainsi que de mon admiration sans limite.

A MON PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur P. MESNARD

Professeur de Chimie organique à l'Université de Bordeaux II
Membre correspondant de l'Académie de Pharmacie
Docteur ès Sciences physiques
Inspecteur principal des Pharmacies
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier de l'Ordre national du Mérite
Officier des Palmes académiques
Officier de la Santé publique
Médaille de Vermeil du Service de Santé de la Marine
Membre correspondant de la Réal Académia de Farmacia de Madrid et de l'Institut de Coimbra (Portugal)
Membre d'honneur de la Société de Pharmacie de Bénarès (Inde)

Je n'étais qu'étudiant en pharmacie lorsque vous m'avez accueilli avec enthousiasme dans votre laboratoire.

L'organisation des travaux pratiques de synthèse organique, dont vous m'avez confié la mission, m'ont permis de connaître et d'apprécier les qualités humaines d'un "Patron" à la tête de son équipe.

Après m'avoir inspiré ce sujet de recherche, vos encouragements et les moyens que vous avez mis largement à ma disposition me permettent aujourd'hui de me présenter devant ce jury que vous présidez.

Qu'il me soit permis de vous exprimer ma grande admiration et mon indéfectible attachement.

Je ne puis me limiter à m'adresser à mes juges.

L'emploi du pronom "Nous" pour désigner la personnalité de l'auteur, conformément à une vieille tradition, ne saurait , ici , être en accord avec la réalité.

Il représente très mal l'évolution et la réalisation d'un travail auquel je n'aurais pu aboutir sans l'aide précieuse de nombreux collaborateurs. Je ne saurais jamais trop les remercier pour l'intérêt manifeste qu'ils ont accordé à ces recherches.

Messieurs les Professeurs Ch. DULONG de ROSNAY, M. DALLOCCHIO, F. MOULINES et J. BARRAUD, ont mis spontanément leurs compétences et le matériel de leurs services à ma disposition.

Je m'adresse également à l'Unité de recherche U8 de l'INSERM et plus particulièrement à Messieurs G.RAZAKA et M. RABAUD, qui ont consacré pendant plusieurs mois la majeure partie de leur temps à ce travail de recherche.

Que Mademoiselle C. CHAPARD, Messieurs J.P. DUPIN, B. LEMOIGNE, G. DARGACHA, D. GRENIE, A. FOURTILLAN,M.HERVE, C. NAPIAS, Ph. MOTHES, PETRAUD, G. BOURGEOIS, G. DENNERY, G. BOUTINET et P. BRAQUET, ainsi que tout le personnel des divers laboratoires qui ont directement ou indirectement collaboré à ce travail, soient également remerciés.

ETUDE CHIMIQUE ET PHARMACODYNAMIQUE

DE QUELQUES DERIVES ORGANOSILICIES HYDROSOLUBLES

×
× ×

Travail du Laboratoire de Chimie Organique
et de Contrôle physico-chimique des Médicaments
Université de Bordeaux II, Faculté de Pharmacie
(Professeur P. MESNARD)

et de l'Unité U_8 de recherche INSERM
de Cardiologie
(Professeur H. BRICAUD)

INTRODUCTION

Les dérivés minéraux ou organiques du silicium ont été longtemps considérés comme biologiquement inertes. Cet élément entre pourtant dans la composition de tous les organismes végétaux ou animaux.

Chez les animaux supérieurs et chez l'homme, les dérivés du silicium remplissent, malgré leur teneur relativement faible dans la majorité des organes des fonctions très importantes. Actuellement, il est clairement établi qu'ils sont indispensables dans les tissus épithéliaux et conjonctifs auxquels ils confèrent en particulier, solidité, élasticité et imperméabilité.

D'après VORONKOV (1) l'intervention de ces composés dans les processus métaboliques de la matière vivante et, plus particulièrement dans le métabolisme des lipides, ne doit pas être mise en doute. Les méthodes colorimétriques ont amené un énorme progrès dans le dosage du silicium présent dans les tissus animaux (2), (3), (67). Elles ont permis de mettre en évidence des perturbations dans l'échange de composés siliciés au cours de nombreux processus pathologiques. De telles constatations ont été enregistrées dans le cas de l'artériosclérose.

Dès le début du siècle, des auteurs tels que GOUGET (4) recherchent dans l'atherosclérose expérimentale, des effets protecteurs en administrant des dérivés minéraux de l'acide orthosilicique, notamment le silicate de sodium. Pour être mieux assimilés dans l'organisme et par là plus actifs, les dérivés siliciés doivent être administrés par voie intra-veineuse (58, 59). L'hydrosolubilité de ces dérivés devient alors indispensable.

Les composés du silicium sont retrouvés sous trois formes chimiques essentielles dans les tissus des êtres humains et animaux (60 à 65):

- des composés minéraux hydrosolubles dérivés de l'acide ortho-silicique,
- des dérivés organosiliciés et des complexes contenant le groupe alcoxysilane Si-O-C. Ces dérivés, solubles dans les solvants organiques, sont liés aux protéines et aux lipides,
- des polymères siliciés insolubles.

L'épanouissement qu'a connu la chimie organique du silicium depuis la dernière guerre mondiale, conduisit à la préparation de composés organosiliciés possédant ces éléments structuraux. Mais les dérivés hydrosolubles sont peu nombreux et leur effet sur l'organisme dépend, dans une large mesure, de leur toxicité ou de celle de leurs produits d'hydrolyse. Des dérivés organosiliciques et plus précisément des sels de silanol, injectés par voie intra-veineuse se montrent susceptibles de freiner, voire même d'empêcher l'évolution des processus dégénérateurs constatés chez l'animal au cours de l'athérosclérose expérimentale. Ce rôle protecteur se manifeste par une augmentation des fonctions d'auto-défense et des facilités de désintoxication. Nous en reparlerons ultérieurement dans notre exposé.

Compte tenu des travaux antérieurs réalisés dans le domaine de l'athérosclérose,nous nous sommes intéressés à un polyalcoxysilane dérivé du glycérol, dont la préparation a fait l'objet d'un brevet. (6).

$$\left[(CH_3)_2 \; Si\text{-}OCH_2 - CHOH - CH_2O - \right]_x$$

Il possède trois avantages :

- son hydrosolubilité décrite dans le brevet,
- son absence de toxicité, chez l'animal, signalée par ULIANA (5) qui a étudié certains effets radioprotecteurs de ce composé,
- la présence de groupements alcoxysilanes Si-O-C.

La préparation, la structure, l'hydrolyse de ce dérivé glycérosilicié soulèvent divers problèmes que nous discuterons dans la première partie de ce travail. L'étude de l'hydrolyse nous précisera le mieux possible la forme sous laquelle il est susceptible d'intervenir in vivo vis-à-vis des affections cardiovasculaires étudiées.

Dans une deuxième partie, nous envisagerons la préparation de plusieurs composés siliciés hydrosolubles dérivant de polyols.

Enfin, des essais d'applications pharmacodynamiques du dérivé glycérosilicié dans l'athérosclérose expérimentale, déclenchée chez le lapin par un régime hypercholestérolé, feront l'objet de la troisième partie.

---=---

P R E M I E R E P A R T I E

ETUDE D'UN ALCOXYSILANE

dérivé du glycérol (Produit G.S.)

1,1-Diméthyl-4-hydroxy-1-sila-2,6-dioxacyclohexane

Chapitre I

S Y N T H E S E

Les auteurs du brevet précité proposaient l'action de l'hexaméthylcyclotrisilazane ou du diméthyldiéthoxysilane sur le glycérol en solution :

- dans le diméthylformamide pour le silazane,
- dans la pyridine pour l'éthoxysilane.

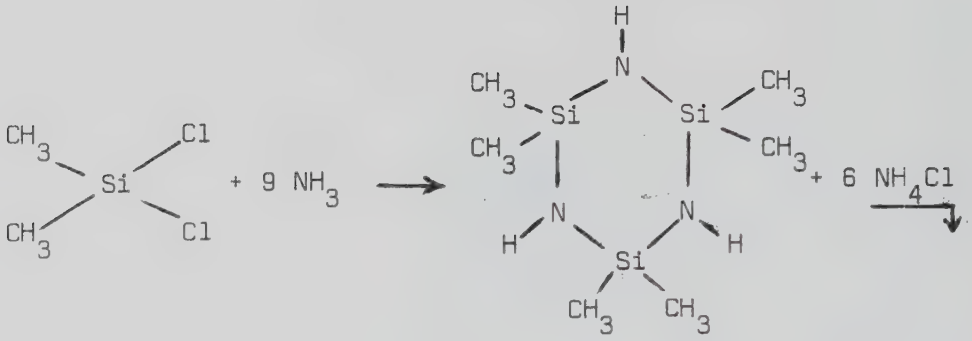
Ils notent toutefois les meilleurs rendements obtenus avec le silazane. C'est cette dernière méthode que nous avons employée et discutée.

Nous avons ensuite décrit un nouveau mode de synthèse à partir de diméthyldichlorosilane.

I. SYNTHESE A PARTIR DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE.

A. RAPPEL DE LA PREPARATION DE l'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE.

Le silazane est préparé par barbotage d'un courant d'ammoniac dans le diméthyldichlorosilane en solution dans du benzène anhydre. Le mélange réactionnel est maintenu à 0°C (7). On peut écrire la réaction :



Diméthyldichlorosilane — *Hexaméthylcyclotrisilazane* $\left[(CH_3)_2\ SiNH\right]_3$

Au cours de cette réaction, il y a également formation d'un tétramère cyclique $\left[(CH_3)_2\ Si\ NH\right]_4$

Après élimination du benzène, une distillation permet de séparer le trimère $\left[(CH_3)_2\ Si\ NH\right]_3$, Eb_{10}=70°C,

du tétramère :..... Eb_1= 105°C

B. CONDITIONS EXPERIMENTALES DE LA CONDENSATION DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE SUR LE GLYCEROL.

1) Conditions dans les proportions stoecchiométriques :

Nous avons repris ici le mode opératoire décrit dans le brevet (6), 22,5 g de trimère (soit 0,304 mole de l'élément de structure $\left[(CH_3)_2\ Si\text{-}NH\text{-}\right]$ sont ajoutés goutte à goutte à 28,4 g de glycérol (soit 0,304 mole) en solution dans 30 g de diméthylformamide agité et maintenu dans un bain-marie à une température inférieure à 80°C.

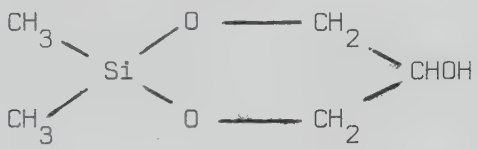
Lorsque l'addition est terminée, le mélange réactionnel est chauffé à 130°C - 150°C jusqu'à ce que cesse le dégagement d'ammoniac (environ 24 heures).

Après élimination du solvant, le produit est purifié par distillation ; nous avons obtenu 40 g d'un produit $Eb_{0,25}$ = 80 - 92°C.

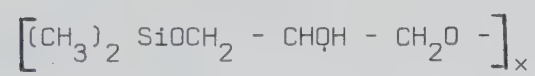
Le produit ainsi distillé possède une viscosité qui augmente au cours du temps par suite de polymérisation et conduit à une substance de consistance gommeuse.

Les auteurs du brevet, en fonction des résultats de l'analyse élémentaire et de l'indice d'hydroxyle ont proposé les structures suivantes :

a/ Pour le produit fraichement distillé :



b/ Pour le polymère :



2) *Condensation en présence d'un excès de glycérol :*

Les conditions expérimentales précédentes, mettent en présence trois fonctions hydroxyle pour un groupement $\left[(CH_3)_2\ \underset{|}{Si}\text{-}NH\text{-}\right]$ et conduisent à un produit pour lequel 1/3 des fonctions hydroxyle est conservé quelque soit le degré de polymérisation.

Nous pouvions nous demander si, en présence d'un excès de glycérol, le produit serait le même (sans intervention de l'excès de glycérol) ou bien si, tout le glycérol réagissant, le produit aurait un indice d'hydroxyle supérieur. Nous avons alors effectué la réaction avec les quantités suivantes :

$[(CH_3)_2\ Si\ NH]$..... 30 g (0,4 mole exprimé en actif $[(CH_3)_2\ Si\text{-}NH\text{-}]_3$)

Glycérol .....110 g (1,2 moles)

Diméthylformamide.....110 g

Après élimination du solvant, nous obtenons par distillation :

- Fraction 1 : $Eb_{0,3}$ = 105 - 110°C 20 g

  n_D^{20} = 1,4440

- Fraction 2 : $Eb_{0,3}$ = 115 - 140°C 70 g

  n_D^{20} = 1,4584

- Fraction 3 : $Eb_{0,3}$ = 140°C 35 g

  n_D^{20} = 1,4730

La fraction 1 correspond à un produit identique à celui préparé dans des conditions stoecchiométriques.

La fraction 3 est du glycérol pur.

La fraction 2 contient, outre du glycérol, un produit silicié.

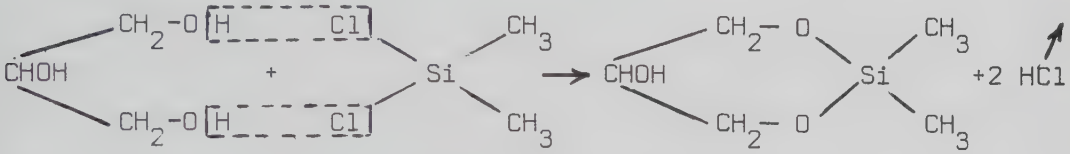
Par traitement au benzène, dans lequel le glycérol n'est pas soluble, nous avons pu extraire, de la fraction 2, 8 g de produit qui s'est révélé identique à la fraction 1.

Ces résultats nous permettent de conclure que la présence d'un excès de glycérol ne modifie pas la nature du produit silicié obtenu.

Toutefois, le fractionnement entre le produit et le glycérol est difficile et le rendement en produit pur s'en trouve fortement diminué.

II. SYNTHESE A PARTIR DU DIMETHYLDICHLOROSILANE.

Il nous a semblé intéressant de déterminer si ce dérivé glycérosilicié pouvait être obtenu suivant la technique très générale d'action des chlorosilanes sur des polyols (8) ce qui à notre connaissance, dans le cas particulier du glycérol, n'a pas été employé. Nous avons alors réalisé la réaction suivante entre le diméthyldichlorosilane et le glycérol :



12,9 g (0,1 mole) de diméthyldichlorisilane sont ajoutés en une demi-heure à 9,2 g (0,1 mole) de glycérol en solution dans 25 g de pyridine. La réaction est exothermique et l'agitation est maintenue jusqu'au retour à la température normale.

Après élimination de la pyridine et extraction au benzène, on recueille par distillation 5 g d'un produit ($Eb_{0,3}$ = 100°C) qui a pu être identifié par spectroscopie infrarouge, résonnance magnétique nucléaire et spectométrie de masse, au produit préparé par les méthodes précédentes.

Il apparaît donc que la méthode générale de préparation à partir de chlorosilanes peut être utilisée ; mais l'acide chlorhydrique, qui se dégage au cours de la réaction, ne s'élimine pas aussi aisément que le gaz ammoniac dans le cas des silazanes ce qui diminue le rendement de la réaction par suite de réactions d'hydrolyse. Par contre, cette méthode de synthèse supprime une étape (synthèse de l'hexaméthylcyclotrisilazane) dans la préparation du dérivé glycérosilicié.

---=---

Chapitre II

ETUDE STRUCTURALE

Lors de la première description de ce composé, les auteurs envisageaient un monomère cyclique dans lequel les fonctions alcool primaire du glycérol, étaient seules mises en jeu et un polymère linéaire dans lequel la fonction alcool secondaire restait libre.

Nous avons essayé de répondre aux questions suivantes :

- Les deux liaisons alcoxysilanes Si-O-C sont-elles établies à partir des fonctions hydroxyle primaire du glycérol ou bien à partir d'une fonction alcool primaire et d'une fonction alcool secondaire ici situées en position alpha l'une de l'autre ? Les deux types de liaison existent-ils simultanément ?
- La polymérisation de ce composé ne pouvant être mise en doute, est-il possible de proposer certains enchaînements particuliers ainsi qu'un ordre de grandeur pour le degré de polymérisation ?

Nous avons alors entrepris des études complémentaires mettant en oeuvre les méthodes physico-chimiques actuelles. Nous analyserons successivement les renseignements que peuvent apporter la spectroscopie infra-rouge, la résonnance magnétique nucléaire et la spectrométrie de masse.

I. SPECTROSCOPIE INFRAROUGE.

Nous avons tout d'abord effectué cette étude car elle permet de mettre en évidence les différents types de liaison intervenant dans le composé :

Sur le spectre enregistré (fig. 1) nous avons pu observer en particulier :

- une bande à 3.400 cm^{-1} caractéristique des vibrations de valence ν OH.
- Les bandes caractéristiques des vibrations de valence ν CH à 2800 - 2900 cm^{-1}.
- A environ 1.150 cm^{-1} la large bande caractéristique du vibrateur triatomique Si-O-C
- Enfin à 810, 860 et 1.260 cm^{-1} les pics caractéristiques des vibrations de groupements méthyle liés au silicium.

Nous vérifions bien la présence des liaisons attendues, mais cette étude n'est que qualitative et doit être complétée par les renseignements qu'apporte la résonnance magnétique nucléaire.

II. RESONNANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE.

Nous avons enregistré le spectre du composé en solution dans le D.M.S.O.D_6 (fig. 2).

- Nous observons, tout d'abord, à 0,15 p.p.m. un pic correspondant au déplacement chimique des protons appartenant aux groupements méthyle liés au silicium.
- Deux massifs centrés à 3,40 et 3,60 p.p.m. correspondent aux déplacements chimiques des protons liés aux atomes de carbone du glycérol (groupements $\geq CHO -$, CH_2O-).
- A 4,35 p.p.m. on observe un pic correspondant au déplacement chimique du proton de la fonction hydroxyle libre. Après échange avec l'eau lourde (D_2O) on note la disparition de ce dernier pic ce qui confirme son identification.

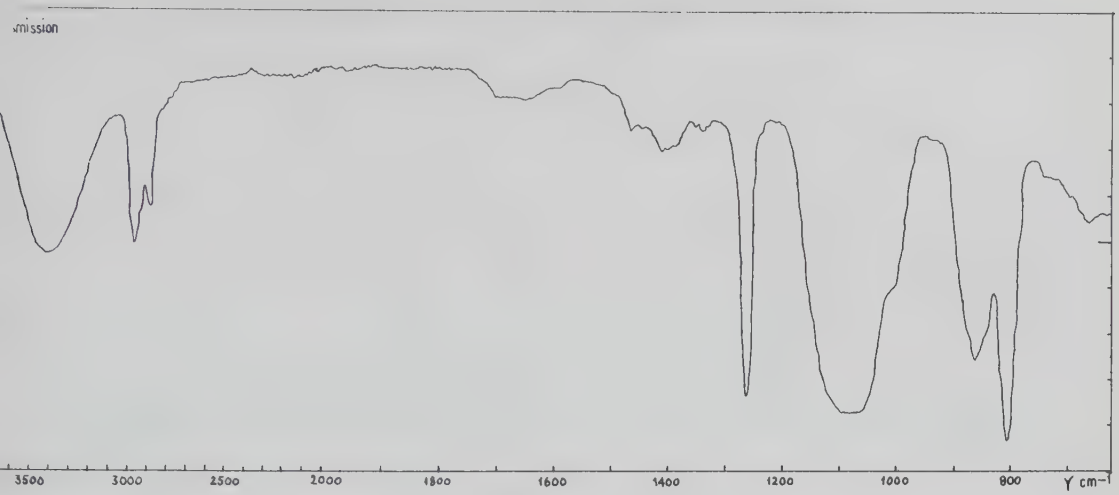


FIG 1

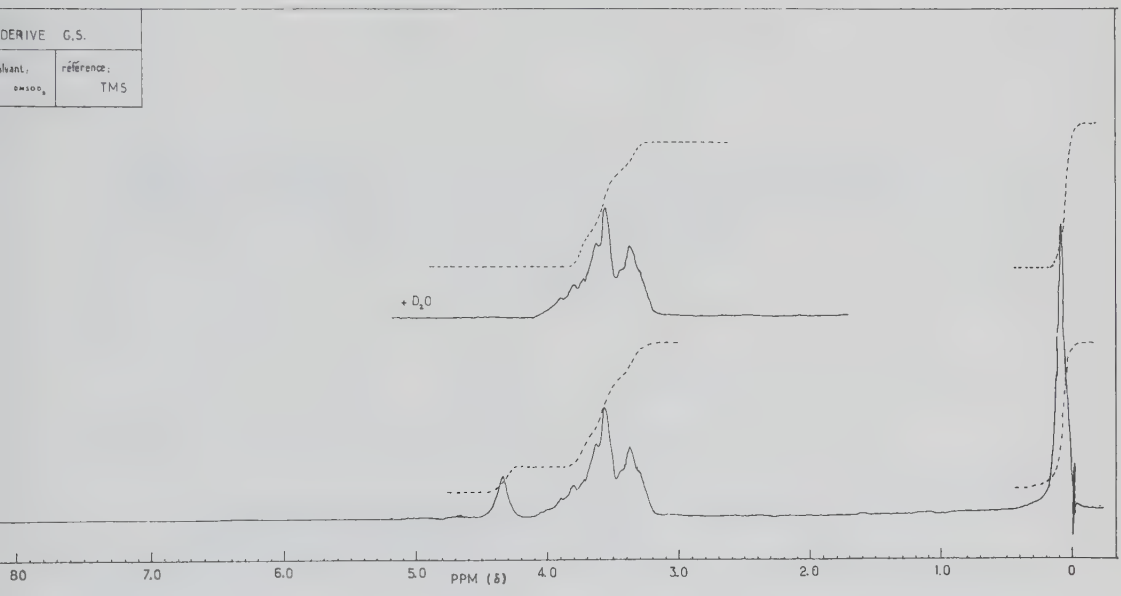


FIG 2

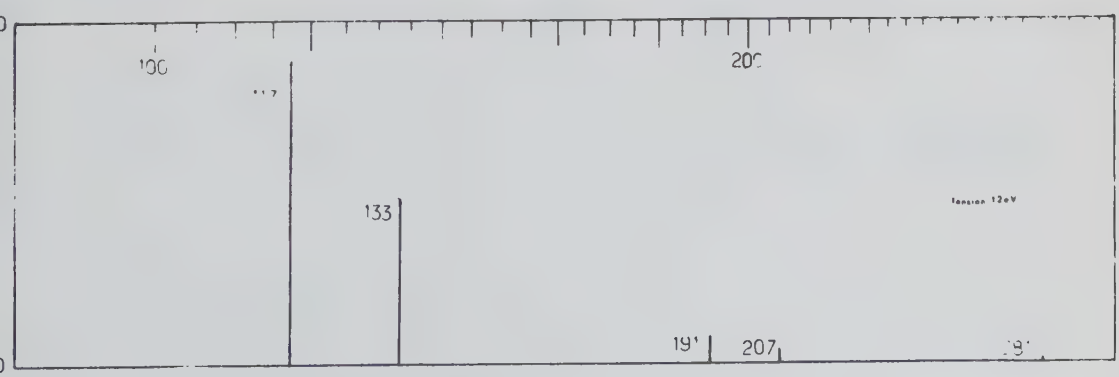
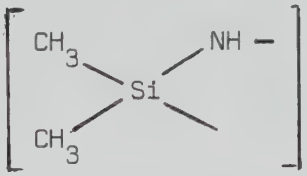


FIG 3

L'intégration des différents pics du spectre confirme la présence de cinq protons liés aux atomes de carbone du glycérol et d'un proton hydroxyle pour les six protons des groupements $(CH_3)_2$ Si —

Ceci nous montre que, quelles que soient les conditions de départ, la réaction se fait entre une mole de glycérol et un élément de structure :



Toutefois, cette intégration se fait globalement pour les protons liés aux carbones du glycérol sans que l'on puisse savoir si les fonctions hydroxyle libres ou liées au silicium proviennent de fonctions alcool primaire ou secondaire.

III. SPECTROMETRIE DE MASSE - (fig.3).

Les pics principaux relevés sur le spectre sont situés aux masses 117 et 133.

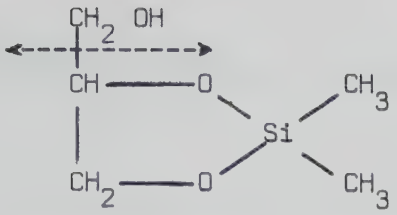
On relève trois pics secondaires aux masses 191, 207 et 281.

A. INTERPRETATION DES PICS 117 et 133.

1) L'interprétation du pic 117,

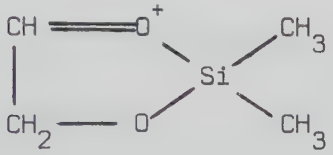
ne peut se faire qu'en envisageant un composé dans lequel une seule fonction alcool primaire et la fonction alcool secondaire en position alpha ont réagi pour donner :

- soit le motif monomère cyclique :



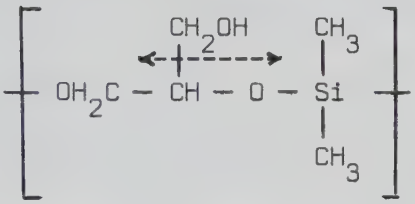
PM = 148

qui après rupture classique donne un cycle dioxolanne de masse 117.



M = 117

- soit le motif monomère d'un enchaînement linéaire :



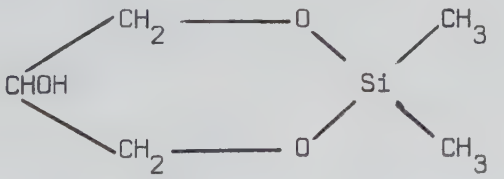
(I)

qui subit une rupture identique.

2) L'interprétation du pic 133,

se fait par contre à partir d'un composé dans lequel les deux fonctions alcool primaire du glycérol ont réagi pour donner :

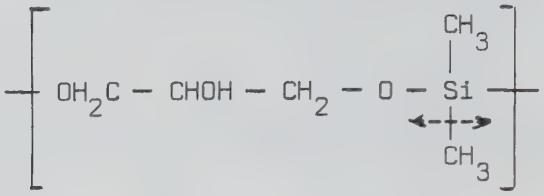
- soit le motif monomère cyclique :



PM = 148

qui après rupture d'un groupement méthyle lié au silicium donne un pic de masse 133.

- soit le motif monomère d'un enchaînement linéaire :

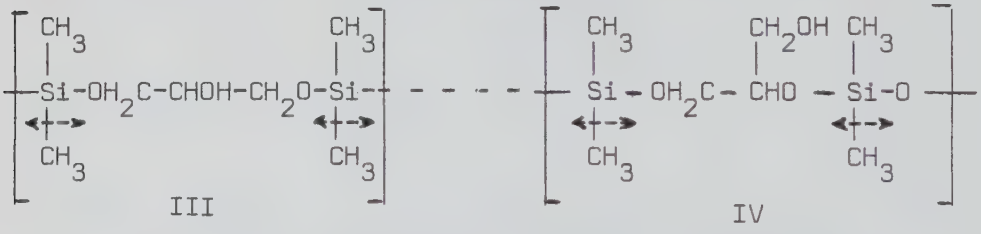


qui subit une rupture identique.

B. INTERPRETATION DES PICS SECONDAIRES.

-Les pics de masse 191 et 207

pourraient correspondre à des ruptures dans l'enchaînement linéaire, faisant intervenir les deux types de motif I et II. On obtiendrait les éléments III et IV suivants :



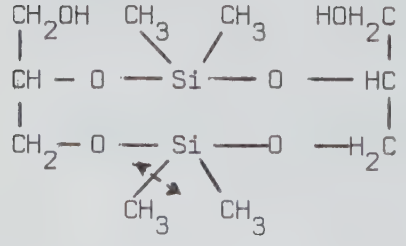
III M = 191

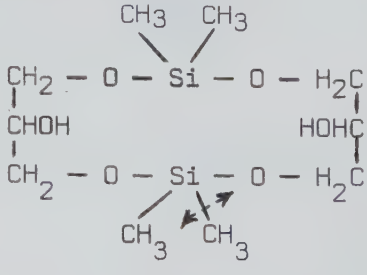
IV M = 207

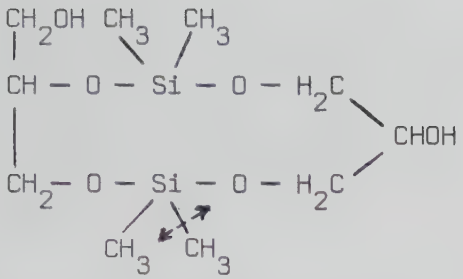
dans lesquels chaque atome de silicium a perdu un groupement méthyle.

-Le pic de masse 281,

semble provenir d'une structure dimère ayant perdu un groupement méthyle au niveau d'un atome de silicium et qui peut exister sous les trois formes suivantes :





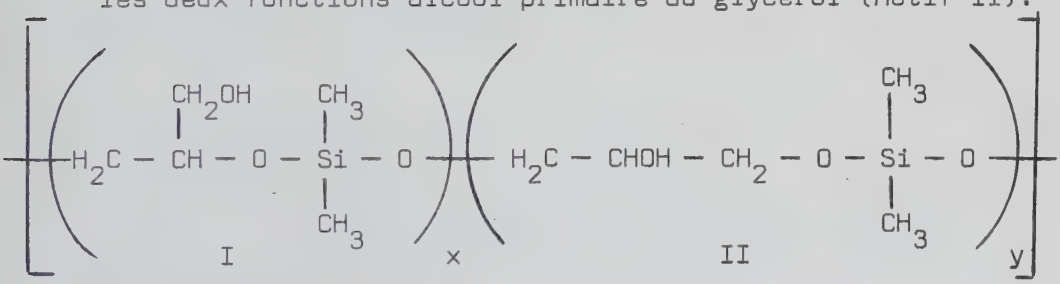


IV. CONCLUSION DE L'ETUDE STRUCTURALE.

Les renseignements qui nous sont fournis par les trois méthodes physico-chimiques mises en oeuvre, nous apportent des éléments de réponse aux problèmes structuraux.

La structure la plus compatible avec les résultats enregistrés doit donc faire apparaitre dans l'enchaînement linéaire deux types de motifs dans lesquels ont réagi respectivement :

- une fonction alcool primaire et une fonction alcool secondaire du glycérol (Motif I).
- les deux fonctions alcool primaire du glycérol (Motif II).



Pour avoir un ordre de grandeur du rapport $\frac{x}{y}$, il peut être tenu compte des intensités relatives des pics de masse 117 (x) et 133 (y). Nous avons trouvé le rapport $\frac{x}{y} = \frac{11}{6}$.

Les mesures en spectrométrie de masse ont été effectuées avec des tensions d'accélération de 10 puis 12 eV. Pour la plus basse de ces tensions le pic de masse

281, que nous avons attribué à des structures dimères, apparaît plus nettement. Cependant, il est vraisemblable que les dimères tirent leur origine d'un réarrangement au cours de l'ionisation en spectométrie de masse. Dans le composé étudié, le degré de polymérisation est beaucoup plus élevé.

---=---

Chapitre III

ETUDE DE L'HYDROLYSE

Nous nous sommes intéressé à ce dérivé silicié en vue d'applications pharmacologiques. Il était donc de première importance d'étudier son comportement en milieu aqueux. Il a été décrit comme hydrosoluble, mais son éventuelle hydrolyse n'a pas été envisagée. Nous nous sommes proposé de l'étudier tant sur le plan quantitatif (quantité de produit subissant une hydrolyse au cours de la solubilisation) que qualitatif (produits auxquels conduit l'hydrolyse si elle a lieu).

I. SOLUBILITE.

Le pourcentage d'hydrosolubilité de ce dérivé n'a pas été jusqu'à maintenant précisé. Nous l'évaluons à environ 2 p.100. Nous remarquons toutefois que la dissolution n'est pas immédiate.

Nous l'avons étudiée en milieu neutre et en milieu acide ou alcalin.

1) En milieu neutre :

- *A froid,* le produit reste longtemps sous forme de phase huileuse et le liquide est opalescent. Une solution limpide n'est obtenue qu'à une grande dilution.

- *A chaud* (une heure à 100°C) la solution obtenue est limpide.

2) *En milieu acide ou alcalin* (pH=4 ou pH=10,5) : les liquides obtenus *à froid ou à chaud* (une heure à 100°C) sont opalescents. De grandes dilutions ne permettent pas d'obtenir une solution limpide. Le trouble disparaît après extraction à l'éther ; il reste alors une phase aqueuse limpide.

II. HYDROLYSE.

A. ETUDE QUANTITATIVE.

Si la dissolution s'accompagne d'une hydrolyse, les liaisons alcoxysilanes sont rompues et du glycérol est régénéré. Il suffira donc de doser le glycérol existant, à l'état libre, dans la solution aqueuse.

L'étude a été réalisée à différents pH après chauffage du mélange (dérivé glycérosilicié-eau) à 100°C pendant une heure :

- pH = 4 milieu acide,
- PH = 7,2 milieu sensiblement neutre (de pH voisin du pH physiologique),
- pH = 10,5 milieu alcalin.

L'hydrolyse à froid a été étudiée à pH = 7,2.

Dans tous les cas, le glycérol a été dosé par deux méthodes :

- une méthode chimique,
- une méthode enzymologique.

1) *Dosage du glycérol par méthode chimique :*

a/ Principe du dosage : (13)

- Le glycérol est transformé en formol sous l'action oxydante du métapériodate de sodium.

- L'excès de métapériodate est neutralisé par l'arsénite de sodium,
- Puis, le formol est dosé colorimétiquement (570 nm) après condensation avec l'acide chromotropique.

b/ Solutions utilisées :

α) *Réactifs :*

- Solution aqueuse de métapériodate de sodium..... 0,05 M
- Solution aqueuse d'arsenite de sodium..... 0,5 M
- Solution d'acide chromotropique :
  - . Acide chromotropique 500 mg
  - . H_2SO_4 concentré..... 150 ml
  - . Eau distillée..... 125 ml

β) *Solutions étalons :*

- Solution aqueuse mère de glycérol bidistillé à 1,022 g par litre (soit 1/90 mole par litre).
- Solutions étalons E_1, E_2, E_3 : leur composition ainsi que celle du blanc, servant à la fois aux étalons et aux dosages, est indiquée dans le tableau suivant :

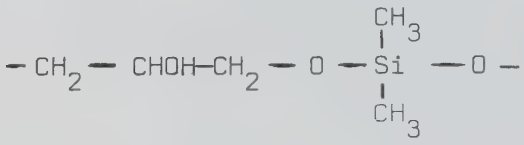
	Solution mère ml	*Eau bidistillée pH = 7 ml*
Blanc	0	100
E_1	1	qsp 100
E_2	2	qsp 100
E_3	3	qsp 100

Ces trois solutions E_1 , E_2 , E_3 , permettront de tracer la courbe d'étalonnage (fig. 4).

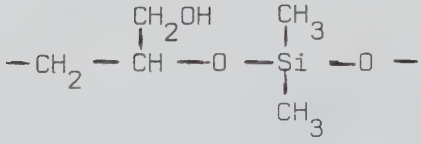
γ) *Adaptation au dosage du glycérol provenant d'une hydrolyse éventuelle.*

Comme nous l'avons signalé précédemment, si une hydrolyse intervient, elle se fera par scission au niveau des liaisons alcoxysilanes Si-O-C.

Que l'on prenne le motif structural :



ou le motif :



la masse est toujours égale à 148 g.

Si l'hydrolyse est totale (100 p.100) 148 g de produit glycérosilicité libèrent 92 g de glycérol. Il en résulte que la solution mère de dosage doit contenir 1,64 g de produit par litre (1/90 mole par litre) pour pouvoir établir une correspondance avec la solution mère utilisée pour l'étalonnage (1/90 mole de glycérol par litre).

D'autre part, afin d'opérer dans des conditions expérimentales satisfaisantes (densité optique de lecture suffisamment élevée en spectrophotométrie), cette solution mère de dosage sera diluée au $\frac{2}{100}$ (solution D) ce qui dans le cas d'une hydrolyse totale établirait une correspondance directe avec la solution étalon E_2. Dans ces conditions, le rapport $\frac{\text{Densité optique dosage}}{\text{Densité optique } E_2}$ fournit le pourcentage de l'hydrolyse.

c/ Mode opératoire :

Dans des tubes à essais renfermant 0,5 ml des solutions Blanc, E_1, E_2, E_3 ou de la solution de dosage D (dilution au 2/100) on ajoute successivement :

- Métapériodate de sodium 0,05 M .....0,1 ml
  le mélange est agité et laissé 10 minutes au repos.
- Arsenite de sodium 0,5 M.....0,1 ml
  on agite et laisse en contact 15 minutes.
- Solution d'acide chromotropique .....5 ml

Les tubes sont portés au bain-marie à 100°C pendant 30 minutes et après refroidissement les lectures sont effectuées dans des cuves de 10 mm de trajet optique à 570 nm. Nous avons utilisé un spectrophotomètre UNICAM SP 800.

2) *Dosage du glycérol par méthode enzymologique* : méthode spécifique à la glycérophosphatedeshydrogenase (14) :

Nous avons utilisé des réactifs Boehringer (Boehringer Mannhein GMBH - Département biochimique).

a/ Principe du dosage :

Le glycérol est phosphorylé par l'ATP en présence de glycérokinase (GK) selon le schéma réactionnel suivant :

$$\text{Glycérol} + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{GK}} \text{Glycérol - 1 - P} + \text{A D P}$$

L'ADP formé, est phosphorylé en présence de phosphoénol pyruvate (PEP) dans une réaction auxiliaire catalysée par la pyruvate-kinase (PK)

$$\text{ADP} + \text{PEP} \xrightleftharpoons{\text{PK}} \text{ATP} + \text{Pyruvate}$$

Le pyruvate formé est réduit en présence de NADH + H^+ dans une réaction indicatrice catalysée par la lactate déshydrogénase (LDH)

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + H^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{lactate} + NAD^+$$

La consommation de NADH + H^+, mesurée par la diminution de l'extinction du mélange réactionnel à 340 nm en fonction du temps (Symbole ΔDo_t) est équivalente à la quantité de pyruvate, d'ADP, donc de glycérol présent.

b/ Solutions utilisées :

α) Solutions et suspensions réactives :

- solution 1 : solution aqueuse :
  Tampon triéthanolamine 0,1 M (pH = 7,6)
  $MgSO_4$ ..... 4 mM
- solution 2 : solution aqueuse
  NADH + H^+ ..... 6 mM
  ATP ..... 33 mM
  PEP ..... 11 mM
- suspension 3 : suspension aqueuse
  LDH ..... 2 mg/ml
  PK ..... 1 mg/ml
- suspension 4 : suspension aqueuse
  GK ..... 2 mg/ml

β) Solutions étalons :

- Solution étalon Mère : solution aqueuse contenant 2,03 g de glycérol bidistillé par litre,
- Solution étalon Fille : solution aqueuse contenant 20,3 mg de glycérol bidistillé par libre, obtenue par dilution au $\frac{1}{100e}$ de la solution Mère précédente.

γ) Adaptation au dosage du glycérol provenant d'une hydrolyse éventuelle :

Si l'hydrolyse étudiée est totale : 0,0221 mole de dérivé glycérosilicié (3,28 g) libère 2,03 g de glycérol. Ici aussi une correspondance directe, entre étalon et dosage, est établie pour une solution Mère de dosage contenant, pour un litre, les produits d'hydrolyse de 3,28 g de dérivé glycérosilicié.

Le rapport $\frac{\Delta\ Do_t\ \text{dosage}}{\Delta\ Do_t\ \text{étalon}}$ nous donnera le pourcentage de l'hydrolyse.

c/ Mode opératoire :

Dans une cuve de quartz de 10 mm de parcours optique on introduit successivement :

- Solution 1 ..... 2,50ml
- Solution 2 ..... 0,10ml
- Dosage ou étalon (solution étalon Fille) 0,50ml
- Suspension 3..... 0,02ml

Le mélange est effectué à l'aide d'une spatule en plastique et on laisse reposer 10 minutes à la température du laboratoire. Puis, on introduit :

- Suspension 4 ..... 0,02ml

La cinétique de la réaction enzymologique est enregistrée à 340 nm, une minute après l'addition de la suspension 4. Nous avons utilisé un spectrophotomètre enregistreur UNICAM SP 800. En tenant compte du facteur température, la pente de la droite obtenue est proportionnelle à la concentration en glycérol des solutions dosées. Il suffit donc de mesurer, dans la partie linéaire enregistrée, la différence de densité optique Δ Do pour un temps donné (temps choisi 5 minutes : ΔDo_5).

La cinétique de la réaction utilisée est très rapide et la droite, représentant la chute d'extinction à 340 nm, doit être tracée par extrapolation. Ceci nous limite dans la précision du dosage.

3) *Description des protocoles d'hydrolyse :*

a/ Hydrolyse à froid en milieu neutre (pH = 7,2) :

1,64 g de produit G.S. sont placés dans un litre d'eau à pH = 7,2. La solution mère obtenue est opalescente La solution devient limpide après dilution aqueuse au $\frac{2}{100e}$ ce qui nous permet d'effectuer un dosage du glycérol libéré par les deux méthodes : chimique et enzymologique.

b/ Hydrolyse à chaud :

Elle est étudiée aux trois pH déjà indiqués (page 22).

α) En milieu neutre les solutions sont limpides,

β) En milieu acide ou alcalin, elles sont opalescentes et deviennent limpides après épuisement à l'éther.

Ceci nous permet :

- d'étudier, sur les plans qualitatif et quantitatif, les produits responsables du trouble observé,
- d'effectuer le dosage du glycérol sur une solution aqueuse limpide.

Le glycérol étant légèrement soluble dans l'éther, la phase éthérée sera épuisée trois fois par 100 ml d'eau que l'on joint à la phase aqueuse initiale.

Les diverses opérations mises en oeuvre sont indiquées dans le tableau I.

4) Résultats obtenus :

Ils concernent :

- le dosage du glycérol dans les solutions aqueuses après hydrolyse,
- la nature et la quantité de dérivés siliciés extraits par l'éther au cours des hydrolyses en milieu acide et en milieu alcalin.

a/ Dosages du glycérol en solution aqueuse après hydrolyse :

α) Dosages chimiques (fig. 4) :

Les rapports $\frac{\text{Do dosage}}{\text{Do étalon } E_2}$ nous donnent les pourcentages d'hydrolyse suivants :

- Hydrolyse à *froid* en milieu neutre : 81 % ..... $\left(\frac{0,560}{0,690}\right)$
- Hydrolyses à *chaud :*

  à pH = 4 ..... 97,5 % ..... $\left(\frac{0,675}{0,690}\right)$

  à pH = 7,2 ..... 95 % ..... $\left(\frac{0,655}{0,690}\right)$

  à pH = 10,5 ..... 97 % ..... $\left(\frac{0,670}{0,690}\right)$

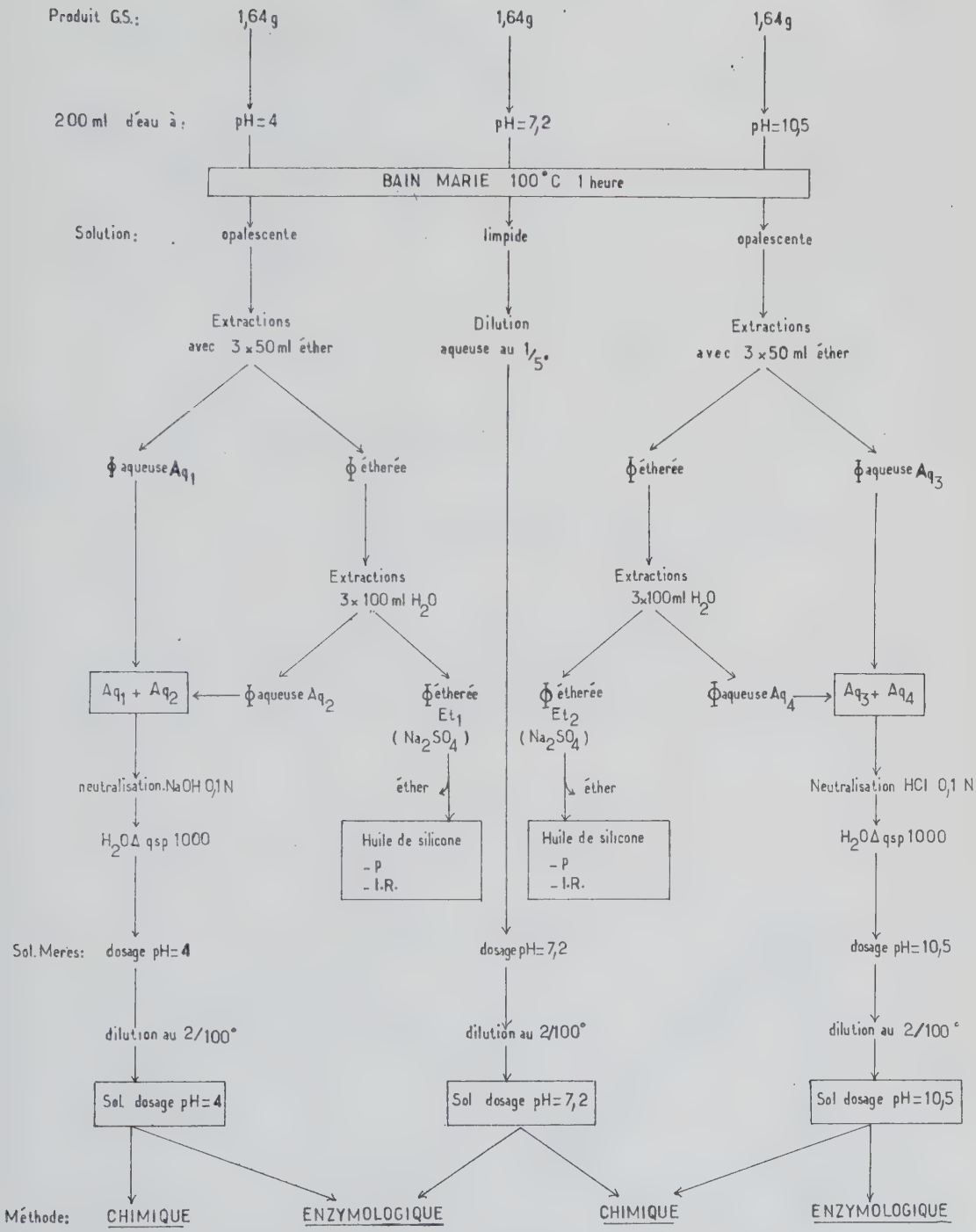

Produit G.S.: 1,64 g 1,64 g 1,64 g
200 ml d'eau à : pH=4 pH=7,2 pH=10,5
BAIN MARIE 100°C 1 heure
Solution: opalescente limpide opalescente
Extractions avec 3 x 50 ml éther
Dilution aqueuse au 1/5e
Extractions avec 3 x 50 ml éther
Φ aqueuse Aq1
Φ étherée
Φ étherée
Φ aqueuse Aq3
Extractions 3 x 100 ml H2O
Extractions 3x100ml H2O
Aq1 + Aq2
Φ aqueuse Aq2
Φ étherée Et1 (Na2SO4)
Φ étherée Et2 (Na2SO4)
Φ aqueuse Aq4
Aq3 + Aq4
neutralisation NaOH 0,1 N
éther
éther
Neutralisation HCl 0,1 N
H2O Δ qsp 1000
Huile de silicone - P - I.R.
Huile de silicone - P - I.R.
H2O Δ qsp 1000
Sol. Mères: dosage pH=4
dosage pH=7,2
dosage pH=10,5
dilution au 2/100e
dilution au 2/100e
dilution au 2/100e
Sol dosage pH=4
Sol dosage pH=7,2
Sol dosage pH=10,5
Méthode: CHIMIQUE ENZYMOLOGIQUE CHIMIQUE ENZYMOLOGIQUE

TABLEAU 1

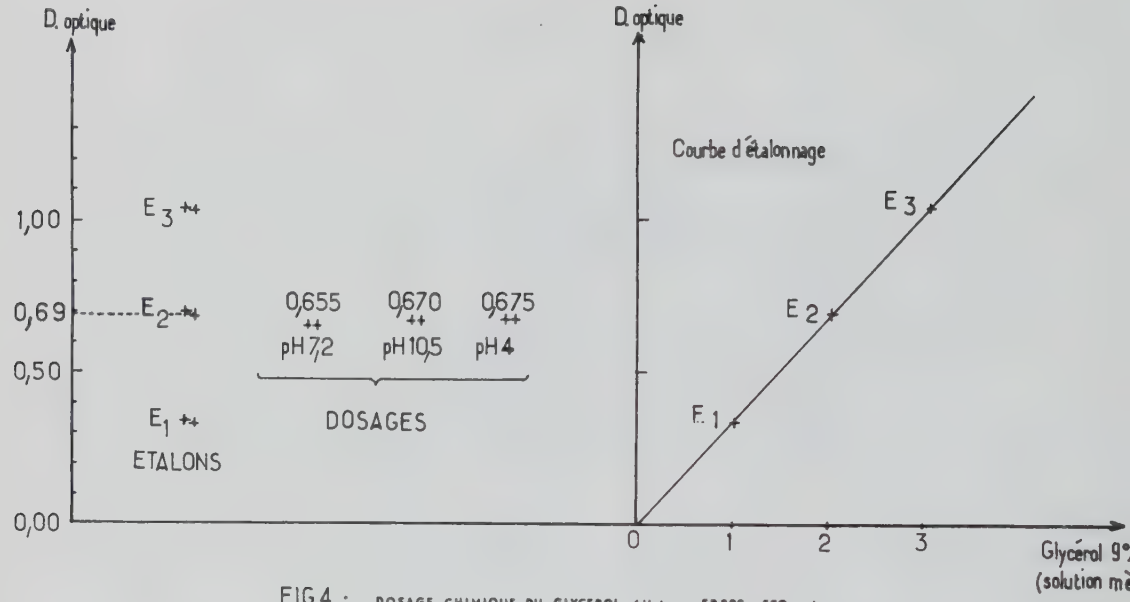


FIG 4 : DOSAGE CHIMIQUE DU GLYCEROL (Unicam SP 800 , 570 nm)

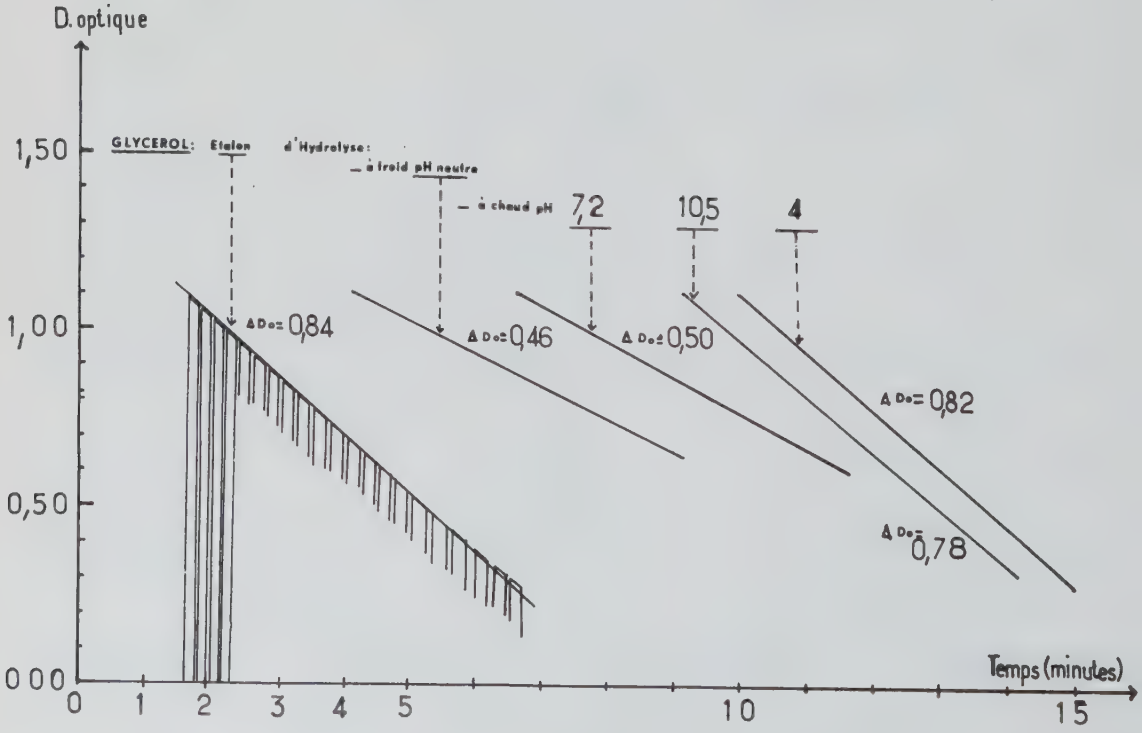


FIG 5 : DOSAGE ENZYMOLOGIQUE DU GLYCEROL (Unicam SP 800 - 340 nm)

β) *Dosages enzymologiques (fig. 5) :*

Les rapports $\frac{\Delta Do_5 \text{ dosage}}{\Delta Do_5 \text{ étalon}}$ donnent les pourcentages d'hydrolyse suivants :

- Hydrolyse à *froid* en milieu neutre : 54 % ..... $\left(\frac{0,460}{0,840}\right)$

- Hydrolyses à *chaud :*

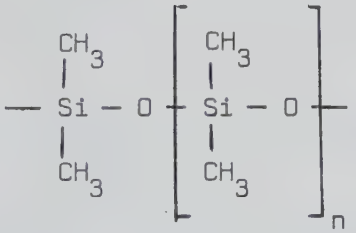
à pH = 4 ..... 97,5 % ..... $\left(\frac{0,820}{0,840}\right)$

à pH = 7,2 ..... 59,5 % ..... $\left(\frac{0,500}{0,840}\right)$

à pH = 10,5 ..... 93 % ..... $\left(\frac{0,780}{0,840}\right)$

b/ Etude des dérivés siliciés extraits à l'éther après hydrolyse en milieu acide et alcalin :

Après élimination de l'éther sous vide, nous avons obtenu, dans les deux cas, une huile indistillable dont le spectre I.R. est rigoureusement identique à celui d'une huile de silicone (I) provenant de l'hydrolyse de diméthyldichlorosilane $(CH_3)_2 SiCl_2$.



(I)

Les poids obtenus sont les suivants :

P_1 = 0,70 g (hydrolyse à pH = 4)

P_2 = 0,68 g (hydrolyse à pH = 10,5)

L'obtention d'une huile de silicone, après hydrolyse acide ou alcaline, semble confirmer l'hydrolyse totale du produit G.S. libérant du diméthyl-silane-diol qui, en milieu acide ou alcalin, est immédiatement transformé en huile de silicone, du type I, insoluble dans l'eau.

Une hydrolyse totale du produit G.S. doit théoriquement donner 0,82 g d'huile de silicone. Les poids P_1 et P_2 obtenus indiquent que nous avons retrouvé respectivement 85 % et 83 % du silicium ce qui, compte tenu des conditions opératoires (volumes d'extractions importants), nous paraît satisfaisant.

5) *Discussion des résultats de l'étude quantitative :*

Les résultats obtenus par la méthode chimique semblent montrer que la solubilisation n'est obtenue que lorsque le produit G.S. subit une hydrolyse, pratiquement totale, libérant la quantité théorique de glycérol ce qui, apparemment, exclut l'existence d'un composé silicié du glycérol hydrosoluble. Ceci peut paraître surprenant, surtout dans le cas de l'hydrolyse en milieu neutre, et appelle une critique de la méthode chimique employée pour le dosage du glycérol. En effet, cette technique fait intervenir du métapériodate dont le rôle est de rompre les liaisons C - C du glycérol et d'oxyder les produits de rupture en formol. Cet oxydant, quoique utilisé en solution très diluée, pourrait provoquer la rupture des liaisons alcoxysilanes Si-O-C libérant ainsi du glycérol.

Pour ces raisons, nous avons eu recours à une méthode enzymologique, spécifique du glycérol qui ne peut en aucun cas entraîner de rupture au niveau des liaisons Si-O-C. Si les résultats obtenus confirment une hydrolyse totale en milieux acide ou alcalin, il n'en est pas de même en milieu neutre. En effet, à pH = 7,2 les dosages enzymologiques montrent que 60 % seulement du produit G.S. a été hydrolysé à l'état de glycérol. Toutefois, il faut remarquer que ce résultat n'exclut pas la possibilité d'une hydrolyse partielle supplémentaire qui affecterait une partie des liaisons Si-O-C sans aller toutefois jusqu'à la libération du glycérol. Les produits d'une telle hydrolyse possédant des fonctions alcool libres, pourraient être générateurs de formol après oxydation périodique . Les résultats du dosage enzymologique confirment, comme nous le verrons ultérieurement, les résultats de l'étude qualitative.

En ce qui concerne les hydrolyses effectuées en milieu acide et alcalin, les résultats concordants obtenus par méthodes chimiques et enzymologiques ainsi que la nature et le poids de l'huile de silicone extraite en phase éthérée sont nettement en faveur d'une hydrolyse totale en glycérol libre.

En conclusion, la solubilisation à pH voisin du pH physiologique (pH = 7,2) est accompagnée d'un phénomène d'hydrolyse dont le degré ne peut être connu avec précision. Il reste, en effet, à déterminer la nature des composés siliciés présents dans la solution.

On peut envisager 3 types de produit :

- des dérivés siliciés non liés au glycérol,
- le produit glycérosilicié initial G.S.
- des dérivés d'hydrolyse glycérosiliciés.

Les produits des deux dernières classes pourraient contenir les 40 % du glycérol non retrouvés par dosage enzymologique.

B. ETUDE QUALITATIVE DE L'HYDROLYSE EN MILIEU NEUTRE.

Pour déterminer la nature des composés siliciés présents dans la solution en milieu neutre, nous avons réalisé la solubilisation d'un échantillon de produit G.S. pour essayer ensuite d'en isoler les différents constituants.

1) Mode opératoire de la séparation des différents constituants :

La solution sur laquelle nous avons travaillé a été préparée de la façon suivante : 10 g de produit G.S. ont été introduits dans 500 ml d'eau bidistillée pour solution injectable. La solution est chauffée une heure à 100°C. La solution obtenue après retour à température normale est limpide.

a/ Extraction au benzène :

La solution a été mise 4 fois en présence de 80 ml de benzène, agitée longuement puis décantée. L'ensemble des phases benzéniques a été séché sur sulfate de sodium anhydre puis distillé. Après élimination du benzène, on recueille :

- Eb_1 = 60 - 70°C 0,70 g soit la fraction B_1
- Eb_1 = 70°C 0,90 g soit la fraction B_2
- Résidus …… 0,15 g

L'ensemble de ces différentes fractions ne représente que 1,75 g. Une importante partie du produit silicié reste donc dans l'eau après extraction au benzène qui est un solvant non miscible à l'eau (solubilité de l'eau dans le benzène inférieure à 4 p.1000) et dans lequel le glycérol est insoluble.

Nous avons alors envisagé l'emploi de l'éther mais ce solvant est légèrement miscible à l'eau et entraînera une légère quantité de glycérol correspondant à cette quantité d'eau.

b/ Extraction à l'éther :

La solution déjà extraite au benzène a été mise 4 fois en présence de 80 ml d'éther. Après récupération de la phase aqueuse, l'ensemble des phases éthérées est séché sur sulfate de sodium anhydre. Après élimination de l'éther par distillation, on recueille :

- Eb_1 = 110°C …… 1,20 g soit la fraction Et_1
- Résidus …… 0,15 g

Le bilan des quantités extraites par ces solvants organiques est de 1,75 + 1,35 = 3,10 g. Or la quantité théorique de produit silicié pouvant se former après hydrolyse est de l'ordre de 4 g. La phase aqueuse contient donc encore du silicium organique.

Le résidu obtenu après élimination de l'eau s'est révélé formé de plusieurs composants.

c/ Séparation des composants de la phase aqueuse :

Après distillation de l'eau sous vide, la phase organique restante est séchée sur une quantité minimum de sulfate de sodium anhydre. La distillation de cette phase organique conduit à :

- Eb_1 = 60 - 80°C 0,60g soit la fraction E_1
- Eb_1 = 80°C 1,40g " " " E_2
- Eb_1 = 80 -140°C 0,80g " " " E_3
- Eb_1 = 140°C 2,70g " " " E_4

2) *Caractérisation des différents composés isolés :*

a/ Caractérisation des fractions B_1 et B_2

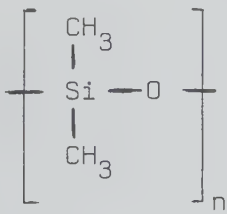
Nous avons d'abord travaillé sur la fraction B_2 qui correspond à un produit pur.

- Elle est *insoluble dans l'eau* alors qu'elle constitue le produit d'extraction benzénique d'une phase aqueuse.
- *L'étude du spectre I.R.* révèle l'existence :
  - . de groupements méthyle liés à du silicium (810 et 1260 cm^{-1})
  - . de liaisons siloxanes Si-O-Si ou alcoxysilanes Si-O-C (1150 cm^{-1})

On peut noter l'absence de bande correspondant au groupement hydroxyle libre (3400 cm^{-1}).

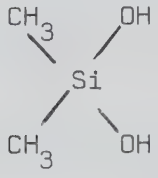
- *L'étude en R.M.N.* (solvant CCl_4, référence T.M.S.) confirme l'absence de protons de groupement OH à 4,5 p.p.m. et de protons liés aux carbones portant ces fonctions hydroxyle par l'absence de pics entre 3,5 et 3,8 p.p.m. Cette étude révèle uniquement la présence de protons des groupements méthyle liés au silicium : pic à 0,15 p.p.m.
- *L'étude en spectrométrie de masse :* révèle un pic à la masse 192 et un pic moins intense à la masse 162.

La formule tenant compte de ces différents renseignements est la suivante :



En effet, nous trouvons là les liaisons et les groupements attendus et cette formule pour n = 3 est en accord avec un pic à la masse 192. La masse 162 est celle de cette molécule ayant perdu 2 groupements méthyle.

La fraction B_1 est pratiquement identique à la fraction B_2 et constituée du même produit. *Ce produit provient vraisemblablement du diméthylsilane diol.*



très soluble dans l'eau.

b/ Caractérisation de la fraction Et_1

- La fraction Et_1 est cristallisée (F = 60°C) et soluble dans l'eau
- *L'étude du spectre I.R.* révèle l'existence :
  - . de groupements méthyle liés au silicium (810 et 1260 cm^{-1}),
  - . de liaisons Si-O-C (1150 cm^{-1})
  - . de fonctions hydroxyle OH (3400 cm^{-1})
- *L'étude en R.M.N.* (fig. 6) (solvant CCl_4 - référence T.M.S.) confirme la présence de protons de groupement OH à 4,5 p. p.m. Ce pic disparaît après échange avec l'eau lourde. Sur le spectre R.M.N. on relève également :
  - à 0,15 p.p.m; un pic correspondant au déplacement chimique des protons des groupements CH_3 liés au silicium.
  - entre 3,5 et 3,8 p.p.m., un massif correspondant au déplacement chimique des protons liés aux carbones portant les fonctions alcool.

L'interprétation des pics du spectre R.M.N. indique les proportions suivantes :

3 protons OH pour | - 12 protons CH_3 - Si
| - 5 protons | $-CH_2O-$
| | $-\underset{|}{C}HO-$

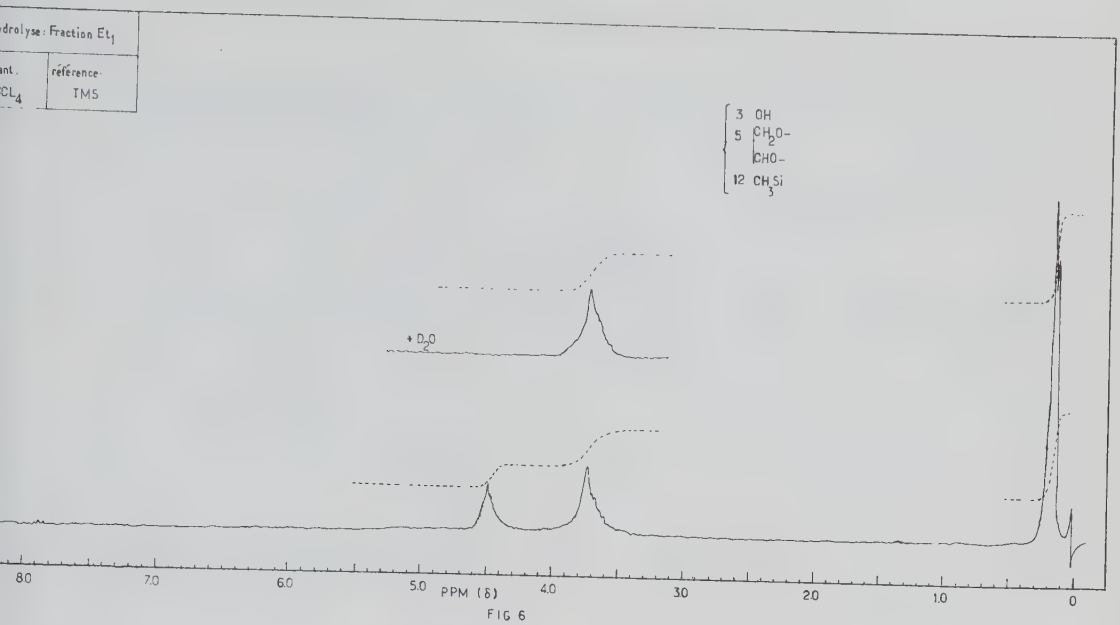

drolyse : Fraction Et1
ant.
référence
TMS
3 OH
5 CH2O-
CHO-
12 CH3Si
+ D2O
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

FIG 6

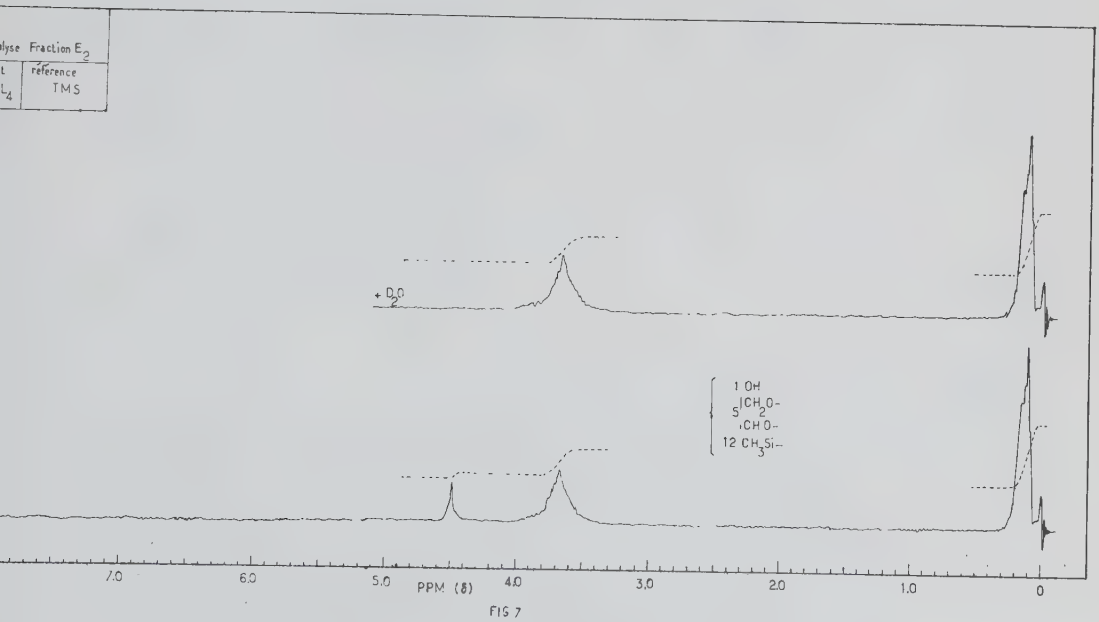
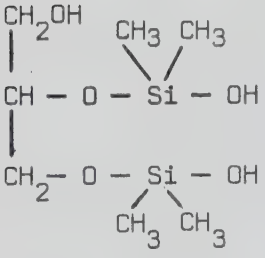

lyse Fraction E2
référence
TMS
+ D2O
1 OH
5 CH2O-
CHO-
12 CH3Si-
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

FIG 7

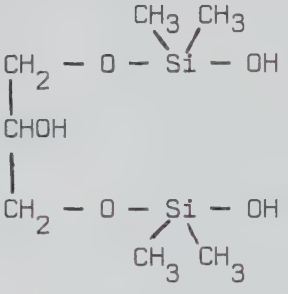
- *L'étude en spectrométrie de masse* nous permet d'enregistrer :

  - un pic moléculaire à la masse 240,
  - un pic à la masse 209,
  - un pic moins intense à la masse 191.

- Les formules tenant compte de ces différents renseignements sont les suivantes :



ou



I - PM = 240

II - PM = 240

Dans ces deux formules nous retrouvons les liaisons et les groupements attendus. La masse 209 peut provenir de la foruule I ayant perdu un groupement CH_2OH et la masse 191 de la même formule ayant perdu en plus du groupement précédent une molécule d'eau (déshydratation intramoléculaire entre les deux fonctions OH liées au silicium).

c/ Caractérisation des fractions E_1 et E_2

Ces deux fractions sont pratiquement identiques. Nous allons étudier la fraction E_2 qui correspond à un produit pur.

- Elle est peu soluble dans l'eau.
- *L'étude du spectre I.R. révèle :*

  . des groupements CH_3 liés au silicium (810 et 1260 cm^{-1}),

  . des liaisons Si-O-C (1150 cm^{-1}),

  . une bande correspondant à des groupements OH libres (3400 cm^{-1})moins intense que dans le cas de la fraction Et_1

- *L'étude en R.M.N.* (figure 7.) (solvant CCl_4-référence T.M.S.) permet de mettre en évidence l'existence :

  - d'un pic à 4,5 p.p.m. correspondant au déplacement chimique de protons de fonctions OH. Ce pic disparaît après échange avec l'eau lourde.
  - d'un massif situé entre 3,5 et 3,8 p.p.m. caractéristique des protons de groupements $-CH_2O-$ ou $>CH-O-$
  - d'un pic à 0,15 p.p.m. caractéristique des protons des groupements CH_3 liés au silicium.

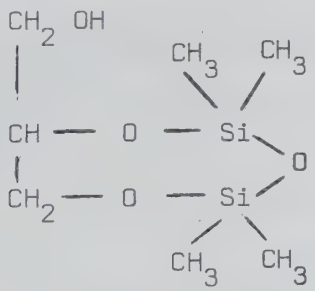
L'intégration des différents pics du spectre R.M.N. indique :

1 proton OH pour | - 12 protons CH_3-Si-
| - 5 protons | $-CH_2O-$
| | $>CHO-$

Etude en spectrométrie de masse :

On enregistre un pic moléculaire de faible intensité à la masse 222 et un pic très intense à la masse 191.

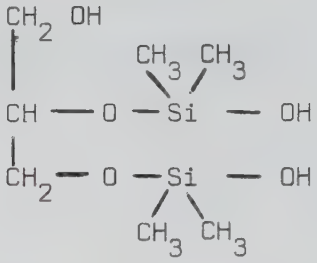
La formule la mieux adaptée à ces divers renseignements est la suivante :



P.M. = 222

Nous retrouvons dans cette formule les liaisons et les groupements attendus. La masse 191 est celle d'une telle molécule ayant perdu un groupement CH_2OH.

Ce produit peut éventuellement provenir de la déshydratation intramoléculaire, en cours de distillation, d'un produit d'hydrolyse partielle du type suivant (type I de la fraction Et_1) :



Par contre, il ne peut résulter en aucun cas de la recondensation en fin de distillation entre une molécule de glycérol et deux molécules de diméthylsilanediol qui aurait été extrait lors du traitement benzénique de la phase aqueuse.

d/ Caractérisation des fractions E_3 et E_4

Ici aussi ces deux fractions sont sensiblement identiques. Nous allons étudier la fraction E_4 qui correspond à un produit pur.

- Cette fraction est très soluble dans l'eau,
- *Le spectre I.R.* qui révèle l'absence de silicium, est superposable à celui obtenu avec du glycérol pur.
- Son indice de réfraction et son point d'ébullition sont identiques à ceux que l'on peut obtenir avec du *glycérol*.

$$- n_D^{20} = 1,4730$$

$$- Eb_1 = 140°C.$$

Les fractions E_3 et E_4 sont donc constituées de glycérol.

3) Discussion des résultats de l'étude qualitative de l'hydrolyse en milieu neutre.

Si nous effectuons le bilan :

- pour le silicium organique considéré sous sa forme atomique, on trouve 1,60 g de silicium pour 1,87 g attendus. 85% du silicium initialement présent dans le produit G.S. sont donc retrouvés,

- pour le glycérol, on retrouve 4,92 g pour 6,10 g attendus. Dans ce cas on retrouve 81 % du glycérol.

Ces résultats nous ont paru satisfaisants compte tenu des nombreuses opérations effectuées (extractions multiples et pertes de colonne au cours des distillations).

D'autre part, nous avons retrouvé 3,50 g de glycérol libre c'est-à-dire 57,5 % du glycérol existant dans le dérivé glycérosilicié initial. Ces résultats semblent parfaitement en accord avec deux du dosage enzymologique (60 %). L'huille de silicone, non hydrosoluble, obtenue ne peut provenir que de diméthylsilanediol $(CH_3)_2 Si (OH)_2$ très soluble dans l'eau.

Or 50 % du silicium initial sont retrouvés sous cette forme $\left(\frac{0,76}{1,60}\right)$. Il semble que *50 à 60 % environ du produit G S initial soit entièrement hydrolysé*, ce qui donne naissance à du glycérol libre et du diméthylsilanediol.

Les autres composés obtenus (fractions Et_1, E_1, E_2) sont des produits d'hydrolyse partielle. Il est intéressant de remarquer que ces derniers composés possèdent tous dans leur formule au moins une fonction alcool libre.

---=---

Chapitre IV

CONCLUSION DE L'ETUDE DU DERIVE GLYCEROSILICIE

Le dérivé glycérosilicié, décrit comme résultant d'une condensation entre le glycérol et l'héxaméthylcyclotrisilazane dans des proportions stoecchiométriques, est également obtenu d'une part en modifiant les proportions des composés réagissant, d'autre part par action du diméthyldichlorosilane sur le glycérol.

La structure de ce composé, d'obtention facile et générale, est cependant difficile à établir. En effet, si la précision des techniques physico-chimiques met en évidence la présence de deux types de motifs structuraux, le degré de la polymérisation, dans laquelle ils sont rassemblés, ne semble pas accessible à la mesure.

La solubilisation de ce produit ne semble être que la conséquence de son hydrolyse. Les composés dérivant de cette hydrolyse et eux mêmes solubles, sont nombreux, mais correspondent à un réarrangement de molécules de diméthylsilanediol entre elles ou avec du glycérol. Il était pour nous de première importance de connaître cette hydrolyse en raison de l'application pharmacodynamique à laquelle nous avions destiné ce produit.

D E U X I E M E P A R T I E

ETUDE DE QUELQUES COMPOSES ORGANOSILICIES HYDROSOLUBLES DERIVES DE POLYOLS

Indépendamment des applications pharmacodynamiques auxquelles nous destinions le composé organosilicié du glycérol, que nous venons d'étudier, il nous a semblé intéressant d'étendre nos recherches à d'autres polyols et de préciser si les composés obtenus étaient d'une part hydrosolubles, d'autre part polymérisés.

Nous avons mis en expérience :

- *Trois triols :*

  . l'hexane triol - 1, 2, 6,
  . la triéthanolamine,
  . le 2 - Amino - 2-(hydroxyméthyl)-1,3 - propanediol (dérivé TRIS).

- *et deux tétrols :*

  . l'érythritol,
  . le pentaérythritol.

Après avoir rappelé la méthode de synthèse que nous avons utilisée, nous étudierons successivement les condensations réalisées entre l'héxaméthylcyclotrisilazane et ces différents polyols. Nous complèterons cette étude, pour des raisons qui seront exposées ultérieurement , par la condensation de l'héxaméthylcyclotrisilazane avec le glycénol monoacétylé en position 1.

RAPPEL DE LA METHODE DE SYNTHESE UTILISEE.

Nous avons effectué la condensation à partir d'hexaméthylcyclotrisilazane suivant la technique décrite au sujet de la synthèse du dérivé glycérosilicié G.S. Le silazane est ajouté goutte à goutte à une quantité stoechiométrique du polyol en solution dans le diméthylformamide. L'appareil utilisé est constitué par un ballon de Grignard muni d'un agitateur rotatif, d'une ampoule à brome et d'un réfrigérant ascendant dont la partie supérieure est reliée à une colonne de chlorure de calcium anhydre. Le mélange réactionnel est agité et maintenu dans un bain-marie à température inférieure à 80°C (réaction exothermique).

Lorsque l'addition est terminée, on chauffe à 130°C - 150°C, au reflux du diméthylformamide, jusqu'à ce que cesse le dégagement d'ammoniac. La réaction dure environ 24 heures. Le mélange réactionnel est ensuite fractionné par distillation.

---=---

Chapitre I

CONDENSATIONS DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE AVEC DIFFERENTS POLYOLS

I. *CONDENSATION DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE AVEC L'HEXANE TRIOL - 1,2,6.*

A. MELANGE REACTIONNEL.

- Hexane triol - 1,2,6
  (n_D^{20} = 1,4726, $Eb_{0,10}$=146 - 147°C) 41,5 g (0,31 mole)
- Hexaméthylcyclotrisilazane ..... 23 g (0,31 mole exprimé en $(CH_3)_2 Si - NH$)
- Diméthylformamide ..... 30 g

La durée du chauffage au reflux est de 24 heures.

B. DISTILLATION.

1) 28,5g de diméthylformamide sont récupérés
2) Fractionnement du produit de condensation
   - Fraction 1 : $Eb_{0,10}$= 100° à 125°C. ..... 4 g
   - Fraction 2 : $Eb_{0,15}$= 130°C ..... 43 g
   - Fraction 3 : Résidus ..... 5 g

La fraction 1 contient un peu de diméthylformamide et la fraction 3 est identique à la fraction 2.

Nous allons étudier la fraction 2 qui correspond à un produit pur.

C. ETUDE DE LA FRACTION 2 ($Eb_{0,15}$ = 130°C)

1) Caractères généraux :

- Liquide visqueux, incolore, qui apparemment ne se polymérise pas au cours du temps,
- indice de réfraction n_D^{20} = 1,4607
- en milieu neutre, elle est très soluble dans l'eau. La solution se trouble par acidification ou alcalinisation
- elle est soluble dans les solvants organiques usuels : CCl_4, acétone, éther, benzène, D.M.S.O.

2) Etude structurale :

Etude en spectroscopie I.R. :

Le spectre enregistré (fig. 8) nous permet d'observer :

- une bande à 3.400 cm^{-1} caractéristique des vibrations de valence ν OH.
- les bandes caractéristiques des vibrations de valence ν CH à 2.800 - 2.900 cm^{-1}.
- à 1.100 cm^{-1} la large bande caractéristique du vibrateur triatomique Si- O - C.
- à 800, 850 et 1.260 cm^{-1} les pics caractéristiques des vibrations des groupements CH_3 liés au silicium.

Ces résultats mettent en évidence la présence, d'une part, d'un groupement hydroxyle libre, d'autre part d'un groupement alcoxysilane preuve de la condensation.

Etude en R.M.N. (solvant CCl_4 , référence T.M.S.).

Le spectre du composé (fig. 9) nous montre :

- à 0,15 p.p.m. un pic correspondant au déplacement chimique des protons des groupements méthyle liés au silicium.

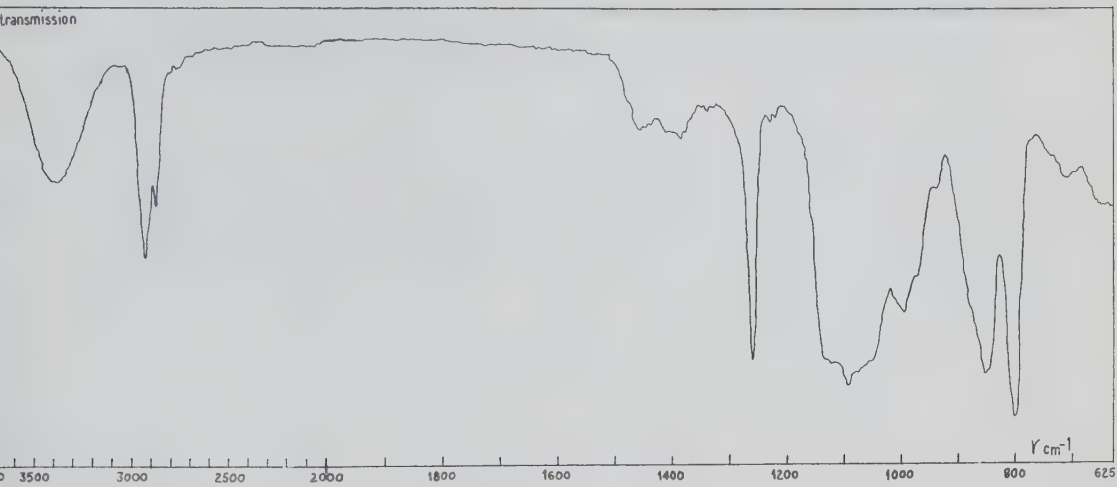

Transmission
3500
3000
2500
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
625
ν cm-1

FIG 8

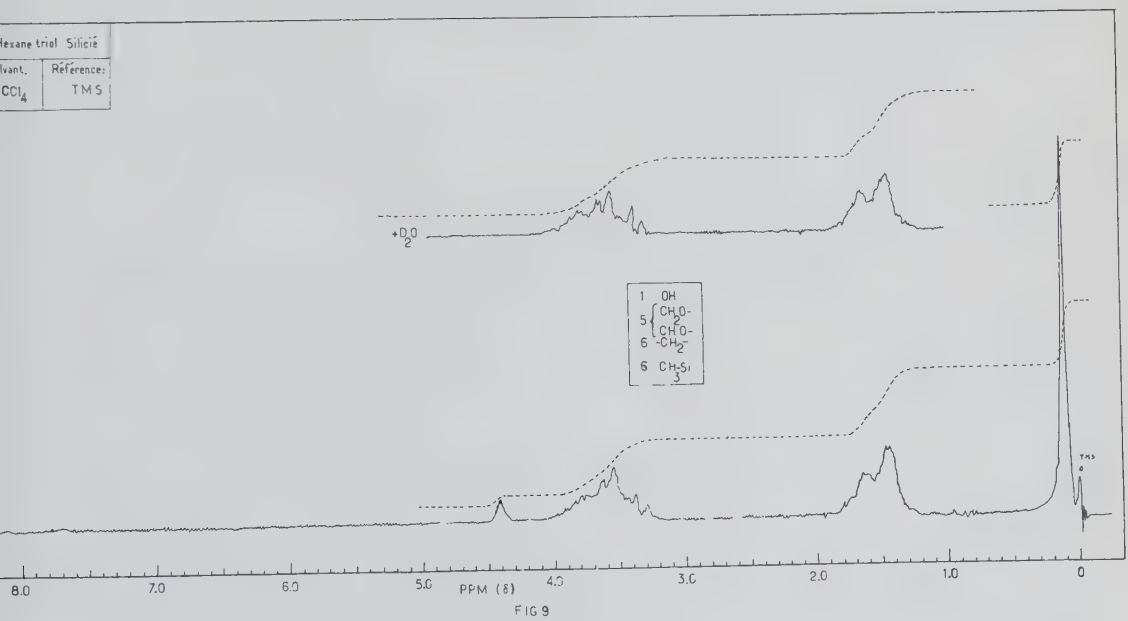

Référence:
TMS
+D2O
1 OH
5 CH2O-
6 -CH2-
6 CH3-Si
TMS
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

FIG 9

- entre 1,4 et 1,8 p.p.m. un massif de pics correspondant aux déplacements chimiques des protons de groupements :—CH_2—
- entre 3,4 et 3,8 p.p.m. un massif correspondant aux déplacements chimiques des protons liés aux atomes de carbone porteurs des fonctions hydroxyle de l'hexane triol.
- enfin, à 4,35 p.p.m. un pic caractéristique du déplacement chimique des protons d'une fonction hydroxyle libre. En effet, ce dernier pic disparaît après échange avec l'eau lourde.

L'intégration des différents pics du spectre confirme la présence de :

1 proton OH pour { - 6 protons —CH_2— ; - 5 protons >CHO— ou —CH_2O— ; - 6 protons CH_3—Si— }

Etude en spectrométrie de masse :

On relève 3 pics principaux :

- un pic de faible intensité à la masse 190,
- un pic plus intense à la masse 159,
- un pic très intense à la masse 117.

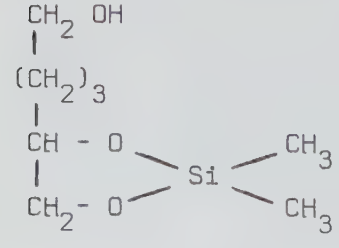
Aucun pic ne laisse supposer ni dimérisation ni polymérisation.

Conclusion de l'étude structurale :

Le composé le plus compatible avec les données fournies par les différentes études physico-chimiques est le :

1,1-Diméthyl-3-(hydroxybutyl)-1-sila-2,5,-dioxacyclopentane

qui a pour formule.



PM = 190

Nous retrouvons dans cette formule les liaisons et les groupements attendus dans les proportions enregistrées lors de l'étude en R.M.N. De plus, elle est en accord avec les résultats de la spectrométrie de masse. En effet :

- le pic de masse 190 est le pic moléculaire,
- le pic relevé à la masse 159 correspond à cette molécule ayant perdu le groupement CH_2OH.
- enfin, le pic de masse 117 caractérise le cycle dioxolanne.

Il s'agit en définitive d'un composé nouveau non décrit à notre connaissance.

II. CONDENSATION DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE AVEC LA TRIETHANOLAMINE.

A. MELANGE REACTIONNEL.

- Triéthanolamine (n_D^{20} =1,4840, Eb_{15}=206°C) 46,2g(0,31mole)
- Hexaméthylcyclotrisilazane..... 23 g
- Diméthylformamide ..... 30 g

Le mélange est chauffé au reflux du diméthylformamide, à 150°C, pendant 24 heures.

B. DISTILLATION.

1) 28g de diméthylformamide sont récupérés,
2) Fractionnement du produit de condensation :
   - Fraction 1 : $Eb_{1,5}$=60° à 119°C. ..... 1 g
   - Fraction 2 : $Eb_{1,5}$=119° - 120°C ..... 56 g
   - Fraction 3 : Résidus ..... 6 g

La fraction 1 contient du diméthylformamide et la fraction 3 est identique à la fraction 2.

C. ETUDE DE LA FRACTION 2 : ($Eb_{1,5}$ = 119 - 120°C.)

1) Caractères généraux :

- Liquide visqueux jaune clair qui doit être conservé en

flacon brun à l'abri de la lumière. Ce produit ne semble pas se polymériser au cours du temps.

- $n_D^{20} = 1,4700$

- il est soluble dans l'eau, le milieu étant neutralisé au cours de la dissolution par addition d'HCL 0,1 N.
- il est insoluble dans l'éther et soluble dans la plupart des solvants organiques : CCl_4 acétone, benzène, D.M.S.O.

2) *Etude structurale :*

Etude en spectroscopie I.R. (fig. 10) : les différentes bandes d'absorption enregistrées entre 625 et 3800 cm^{-1} sont les suivantes :

- une bande à 3.400 cm^{-1} que l'on peut attribuer à des vibrations de valence ν OH,
- les bandes caractéristiques des vibrations de valence ν CH à 2.800 - 2.900 cm^{-1},
- la large bande située vers 1140 cm^{-1} caractéristique du vibrateur triatomique Si-O-C.
- les pics, situés à 800, 850 et 1260 cm^{-1} , que l'on peut attribuer au vibrations des groupements CH_3 liés au silicium.

La spectroscopie I.R. met en évidence, d'une part, la présence de fonctions hydroxyle libres et d'autre part la présence de groupements alcoxysilanes Si-O-C.

Etude en R.M.N. (fig.11) (solvant CCl_4, référence T.M.S.) : le spectre nous montre :

- à 0,20 p.p.m. un pic correspondant au déplacement chimique des protons des groupements CH_3 liés au silicium,
- un massif centré à 2,65 p.p.m. correspondant aux protons des groupements CH_2 liés à l'atome d'azote,
- entre 3,4 et 3,9 p.p.m. un massif que nous avons attribué aux protons liés aux carbones porteurs des fonctions hydroxyle,
- à 4,5 p.p.m. un pic caractéristique de protons de groupements OH libres. La présence de ce pic, qui disparaît après échange avec l'eau lourde, confirme la présence de fonctions alcool libres.

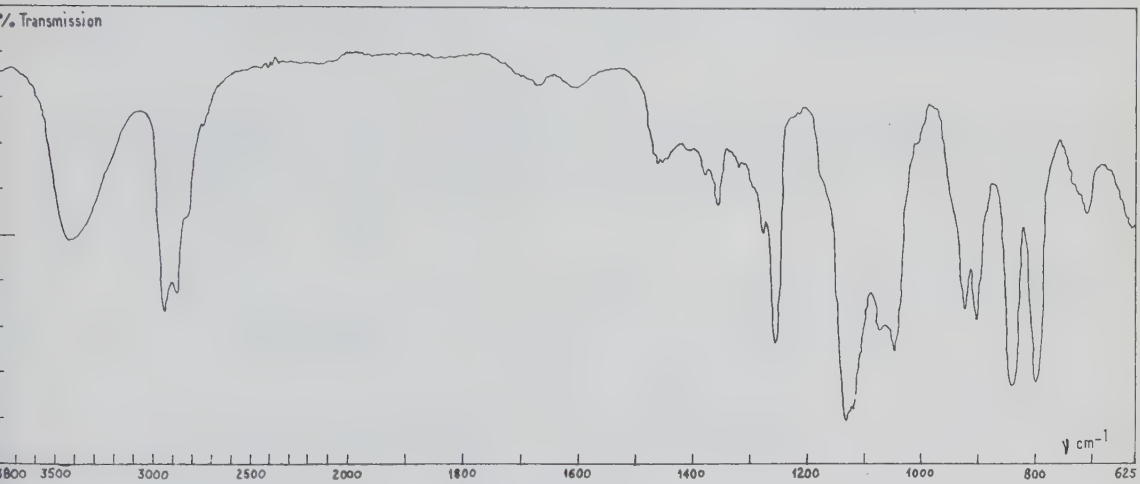

% Transmission
3500
3000
2500
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
625
ν cm⁻¹

FIG 10

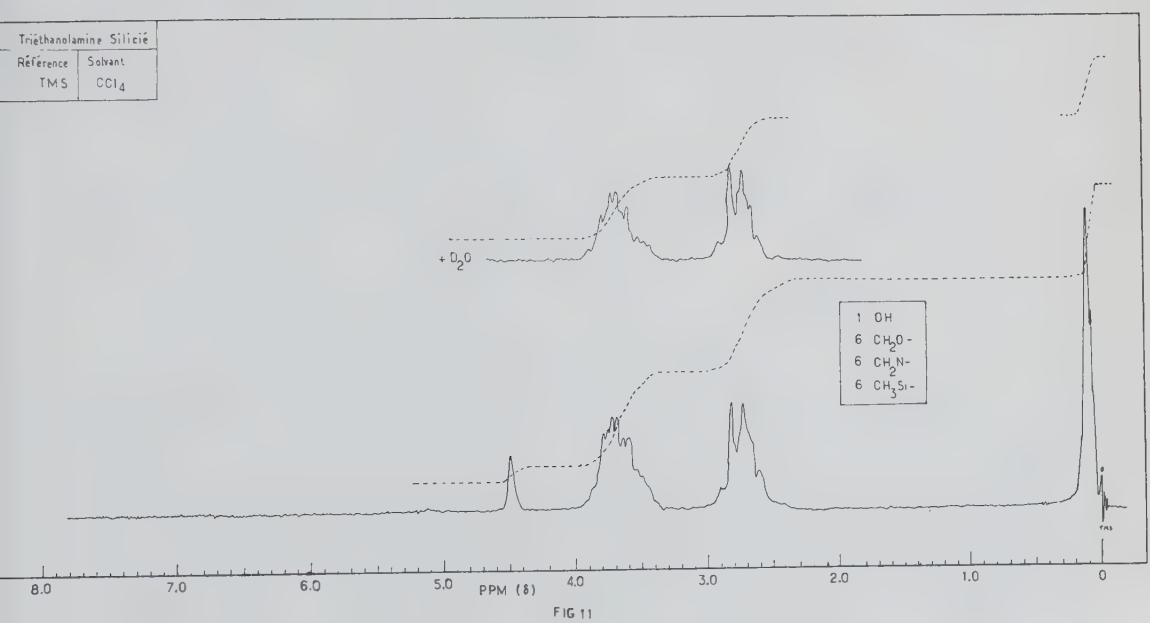

Triéthanolamine Silicié
Référence
TMS
Solvant
CCl4
+ D2O
1 OH
6 CH2O-
6 CH2N-
6 CH3Si-
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

FIG 11

L'intégration des différents pics nous donne les proportions de protons suivantes :

1 proton OH pour { - 6 protons - CH_2O - ; - 6 protons - CH_2 - N< ; - 6 protons - CH_3 - Si - }

Etude en spectrométrie de masse :

Sur le spectre de masse, nous avons enregistré deux pics :

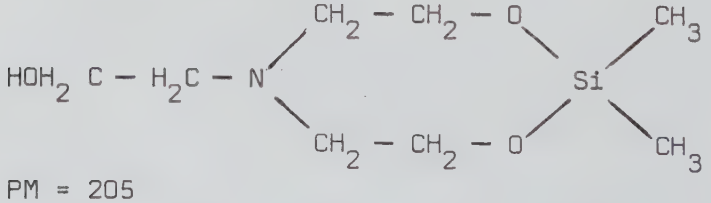
- un pic de faible intensité à la masse 205,
- un pic très intense à la masse 174 qui semble être le pic de base.

Aucun pic d'intensité secondaire ne nous permet d'envisager une structure dimère ou polymère.

Le composé le plus compatible avec les données physico-chimiques précédentes est le :

1,1-Diméthyl-2,8-dioxa-5-(hydroxéthyl)-1-sila-5-azacyclooctane.

Sa formule est la suivante :



PM = 205

Nous y trouvons les liaisons et les groupements mis en évidence en IR et R.M.N. Elle est également en parfait accord avec les résultats de la spectrométrie de masse. En effet, il est fréquent, pour des amines aliphatiques, de trouver un pic moléculaire de faible intensité. Le pic de masse 174 résulte d'une scission, classique en spectrométrie de masse, en β de l'atome d'azote, ce qui a pour effet de libérer un groupement CH_2 OH.

Dans ce composé, non synthétisé à notre connaissance, une fonction alcool primaire, sur les trois mises initialement en réaction, demeure libre.

III. *CONDENSATION DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE AVEC LE 2-AMINO-2-(HYDROXYMETHYL)-1,3-PROPANEDIOL (DERIVE TRIS).*

A. MELANGE REACTIONNEL.

- Dérivé T R I S..... 19g (0,155 mole)
- Hexaméthylcyclotrisilazane 11,50 g
- Diméthylformamide..... 30 g

Le mélange est chauffé à 130 - 135°C pendant 24 heures au reflux, *sous atmosphère d'azote*, en raison de la fragilité de la fonction amine.

B. DISTILLATION : elle est effectuée sous atmosphère d'azote.

1) 27,50 g de diméthylformamide sont récupérés
2) Fractionnement du produit de condensation :
   - fraction 1 : $Eb_{0,1}$ = 60 à 105°C ..... 1 g
   - fraction 2 : $Eb_{0,1}$ =106 - 108°C 22,50g
   - fraction 3 : Résidus 1,50g

La fraction 1 contient du diméthylformamide et la fraction 3 est pratiquement identique à la fraction 2.

C. ETUDE DE LA FRACTION 2 ($Eb_{0,1}$ = 106 - 108°C)

1) Caractères généraux : liquide

- incolore, fortement visqueux.
- n_D^{20} = 1,4680
- très soluble dans l'eau neutre. La solution est troublée en milieu acide et le dérivé opalescent est extractible par l'éther,
- soluble dans l'acétone, le benzène, le D.M.S.O. mais peu soluble dans le CCl_4 et l'éther.

2) Etude structurale :

Elle est effectuée sur le produit fraîchement distillé et conservé sous azote. En effet, au cours du temps, le produit semble se carbonater ce qui rend impossible toute étude physico-chimique.

Etude en spectroscopie I.R. (fig.12) Cette étude révèle :

- à 3.350 cm^{-1} une bande caractéristique des vibrations de valence ν OH.
- à 3.280 cm^{-1} une bande qui pourrait caractériser les vibrations de valence ν NH_2,
- vers 2.800 - 2.900 cm^{-1} , les bandes caractéristiques des vibrations de valence ν CH,
- entre 1.050 et 1.100 cm^{-1}, la large bande caractéristique du vibrateur triatomique Si - O- C,
- à 800, 850 et 1.260 cm^{-1} les pics caractéristiques des groupements CH_3 liés au silicium.

Etude en R.M.N. (Fig. 13) (solvant CCl_4, référence T.M.S.)

Sur le spectre, on relève :

- à 0,15 p.p.m. un pic correspondant au déplacement chimique des protons de groupements CH_3 liés au silicium,
- entre 3,5 et 3,8 p.p.m. un massif correspondant aux protons liés aux carbones porteurs des fonctions hydroxyles.
- à 4,5 p.p.m. un pic correspondant aux protons de fonctions hydroxyle. Ce pic disparaît après échange avec l'eau lourde.
- à 6,85 p.p.m. un pic caractéristique des protons d'une fonction amine qui disparaît également après échange avec l'eau lourde.

L'intégration des différents pics du spectre donne les proportions relatives de protons :

1 proton OH pour { - 2 protons - NH_2 ; - 6 protons - CH_2O - ; - 6 protons CH_3-Si -

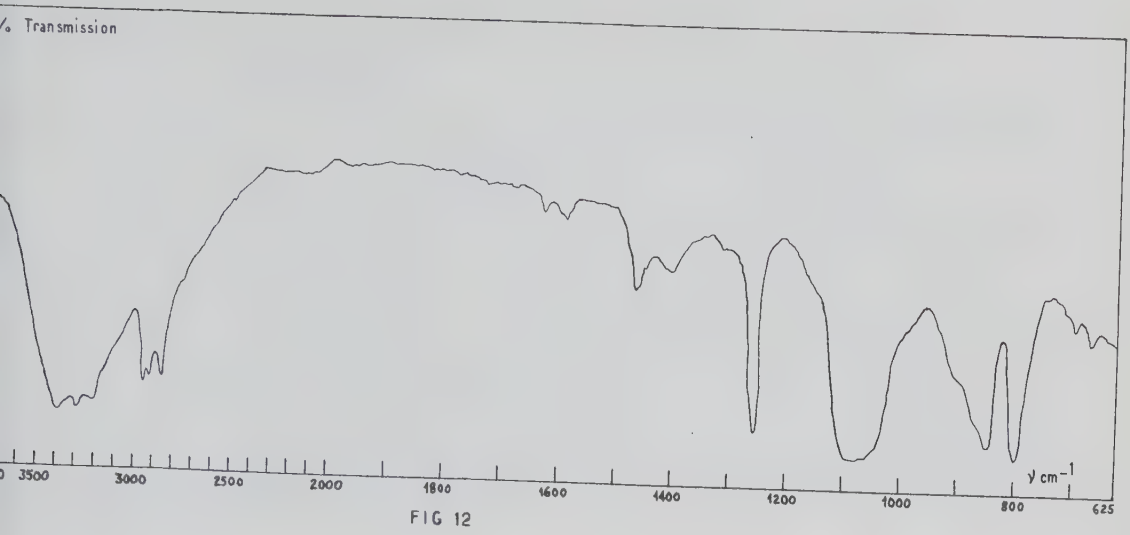

% Transmission
3500
3000
2500
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
625
ν cm⁻¹

FIG 12

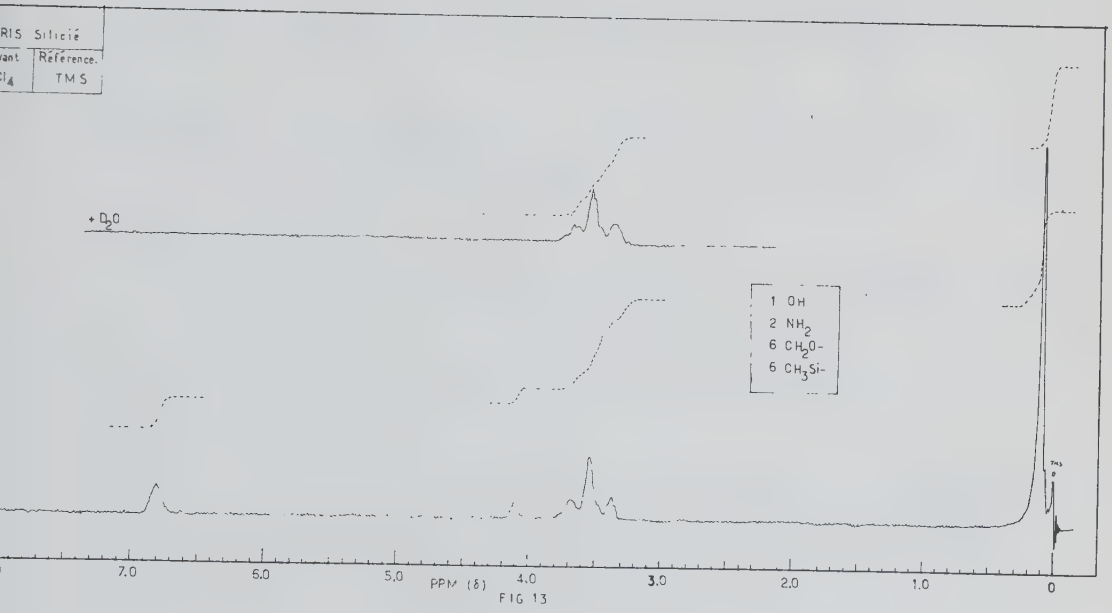

RIS Silicié
Reference.
TMS
+D2O
1 OH
2 NH2
6 CH2O-
6 CH3Si-
7.0
5.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
PPM (δ)

FIG 13

Etude en spectrométrie de masse :

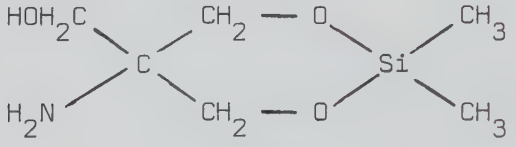
Elle permet d'enregistrer :

- un pic moléculaire assez intense à la masse 177,
- un pic à la masse 146.

Aucun pic ne nous permet d'envisager la formation de dimère ou de polymère.

Le composé le plus compatible avec l'ensemble des données physico-chimiques précédentes est le :

1,1-Diméthyl-4-amino-4-(hydroxyméthyl)-1-sila-2,6-dioxacyclohexane, de formule :



PM = 177

Dans cette formule, nous trouvons les liaisons et les groupements attendus et elle est en parfait accord avec un pic moléculaire à la masse 177. La masse 146 est celle de cette molécule ayant perdu un groupement CH_2OH par scission en β de l'atome d'azote.

Ce composé silicié est de conservation difficile en raison de la présence de la fonction amine. Il n'a pas été synthétisé, du moins à notre connaissance.

IV. CONDENSATION DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE AVEC L'ERYTHRITOL (BUTANETETROL).

A. MELANGE REACTIONNEL :

- Erythritol (Eb_{760} = 329 - 331°C, F = 123°C) 19g (0,155mole)
- Hexaméthylcyclotrisilazane 11,5g
- Diméthylformamide 30g

Le mélange est maintenu 24 heures au reflux entre 130°C et 150°C.

B. DISTILLATION.

1) 28,5 g de diméthylformamide sont récupérés,

2) Fractionnement du produit de condensation :

- Fraction 1 : $Eb_{0,8}$ = 60 à 105°C..... 1 g
- Fraction 2 : $Eb_{0,8}$ = 105 - 106°C..... 15 g
- Fraction 3 : Résidus..... 10 g

La fraction 1 contient du diméthylformamide.

La fraction 3 est très riche en érythritol.

Après distillation, la fraction 2 a une consistance fortement gommeuse.

C. ETUDE DE LA FRACTION 2.

1) Caractères généraux :

Par recristallisation dans l'acétone, nous avons obtenu un solide blanc cristallisé :

- F = 110°C
- Soluble à chaud dans l'eau neutre. La solution se trouble par acidification et le trouble disparaît après extraction à l'éther,
- Insoluble dans l'acétone à froid mais soluble à chaud (différence avec l'érythritol),
- Assez soluble dans les solvants organiques usuels : CCl_4 benzène, éther.

2) Etude structurale :

Etude en spectroscopie I.R. (Fig. 14) : elle est réalisée sur une solution du produit cristallisé dans le CCl_4. On observe sur le spectre :

- *l'absence de bande OH* à 3400 cm^{-1}
- les bandes caractéristiques des vibrations de valence :

  ν CH à 2800 - 2.900 cm^{-1}

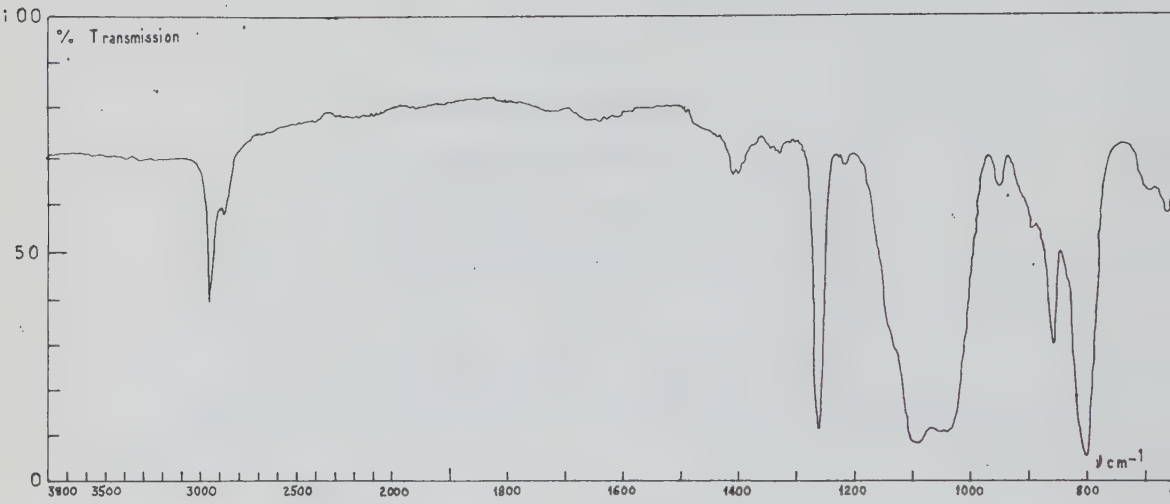

100
% Transmission
50
0
4000 3500 3000 2500 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800
ν cm⁻¹

FIG 14

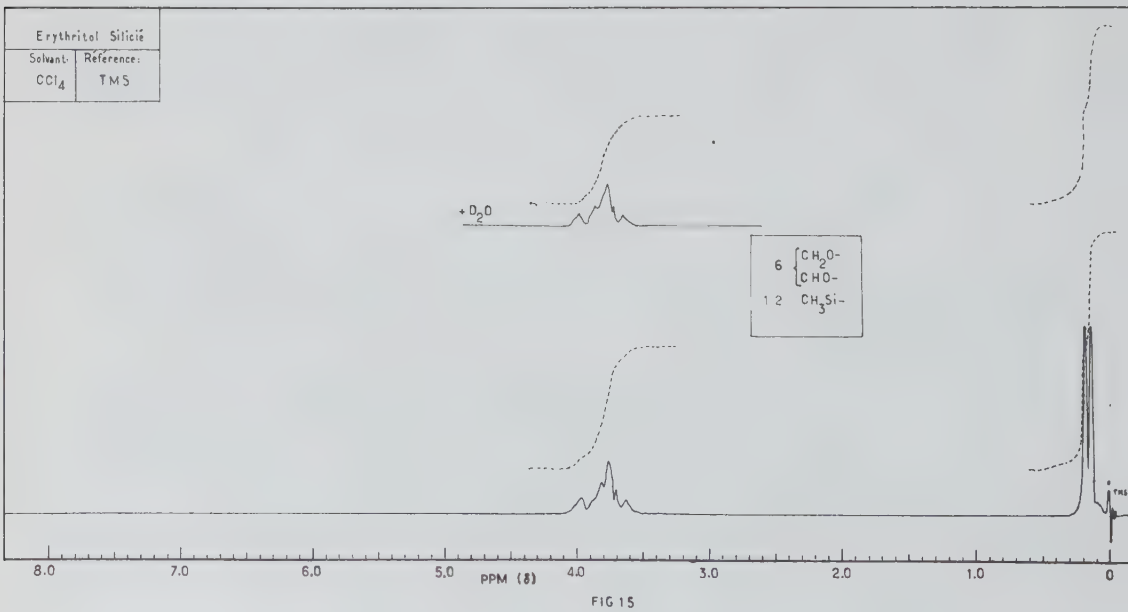

Erythritol Silicié
Solvant: CCl4
Référence: TMS
+D2O
6 {CH2O-
CHO-
12 CH3Si-
8.0 7.0 6.0 5.0 PPM (δ) 4.0 3.0 2.0 1.0 0

FIG 15

- vers 1.100 cm^{-1} la large bande caractéristique du vibrateur triatomique Si-O-C,
- à 800, 860 et 1.260 cm^{-1} les bandes de groupements CH_3 liés au silicium

Etude en R.M.N. (Fig. 15) (solvant CCl_4 - référence T.M.S.)

On relève sur le spectre :

- 2 pics d'égale intensité, respectivement situés à 0,15 et 0,20 p.p.m., dus aux déplacements chimiques des protons de groupements CH_3 liés au silicium. Ces groupements CH_3 voient leurs protons induire deux déplacements chimiques différents.

Il doit exister deux types d'environnement, d'égale participation, pour les groupements méthyle liés au silicium.

- entre 3,7 et 4,1 p.p.m. un massif correspondant aux déplacements chimiques des protons liés aux atomes de carbone de l'érythritol (groupements $-\underset{|}{CHO}-$, $-CH_2O-$)

Après échange avec l'eau lourde, le spectre R.M.N est inchangé aussi bien sur le plan qualitatif que sur le plan quantitatif.

La molécule étudiée, comme le montre également le spectre I.R., ne possède donc pas de fonction hydroxyle libre.

L'intégration des différents pics du spectre confirme la présence de :

6 protons $-\underset{|}{CHO}-$ ou $-CH_2O-$ pour 12 protons $CH_3-\overset{|}{\underset{|}{Si}}-$

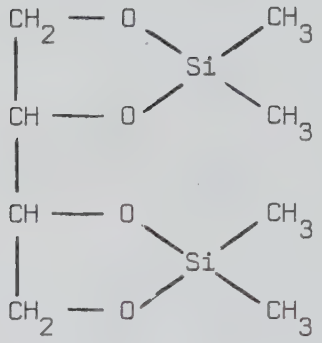
Etude en spectrométrie de masse :

On enregistre sur le spectre de masse :

- 1 pic à la masse 234,
- 1 pic très intense à la masse 117.

Compte tenu des résultats précédents, il nous est possible de proposer le composé suivant :

3,3' - bis (1,1-Diméthyl-1-sila - 2,5 - dioxacyclopentane) de formule :



Nous retrouvons dans cette formule, les groupements (et liaisons) caractérisés en spectroscopie I.R., dans les proportions correspondant aux résultats de l'étude R.M.N.

L'étude en spectrométrie de masse est en parfait accord avec cette molécule :

- le pic à la masse 234 est le pic moléculaire,
- le pic de masse 117, de très forte intensité, correspond à une rupture de cette molécule avec libération de deux cycles dioxolanne.

Ce produit, non synthétisé à notre connaissance n'est pas celui que nous voulions préparer. Nous attendions en effet une molécule possédant une ou deux fonctions hydroxyle libres.

Il est important de remarquer que ce produit, bien que ne possédant pas de fonction alcool libre, peut être dissous à chaud en milieu neutre. Nous ne savons pas encore si cette dissolution n'est que la conséquence d'une hydrolyse ; mais ce produit semble intéressant car il permet de faire passer en solution un pourcentage élevé de silicium.

V. CONDENSATION DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE AVEC LE PENTAERYTHRITOL.

A. MELANGE REACTIONNEL.

- Pentaérythritol ..... 21,1 g (0,155mole)
- Hexaméthylcyclotrisilazane : 11,50g
- Diméthylformamide ..... 30 g

Le mélange est chauffé à 150°C pendant 24 heures.

B. DISTILLATION.

1) 28 g de diméthylformamide sont récupérés,
2) Fractionnement du produit de la réaction :

- Fraction 1 : $Eb_{0,15}$ = 60 à 100°C : 1 g
- Fraction 2 : $Eb_{0,15}$ = 100°C..... 14,60g
- Fraction 3 : Résidus..... 9 g

La fraction 1 contient des traces de diméthylformamide.

La fraction 3 est constituée de pentaérythritol.

C. ETUDE DE LA FRACTION 2 ($Eb_{0,15}$ = 98 - 100°C)

1) Caractères généraux :

La fraction 2 est un produit solide cristallisé, F = 134°C. :

- insoluble dans l'eau à chaud,
- hydrolysé en milieu acide,
- très soluble dans les solvants organiques.

2) Etude structurale :

- *Etude en spectroscopie I.R.* : le spectre a été effectué sur une solution de la fraction 2 dans le CCl_4.

Il révèle :

- l'absence de fonctions OH à 3400 cm^{-1}
- les bandes classiques des alcoxysilanes.

Etude en R.M.N. (Fig. 16) (solvant CCl_4 , référence T.M.S.)

Sur le spectre, nous avons observé :

- un pic, situé entre 0,15 et 0,20 p.p.m., correspondant au déplacement chimique des protons des groupements CH_3 liés au silicium.
- *un pic unique à 3,85 p.p.m.* caractérisant le déplacement chimique d'un seul type de protons liés aux atomes de carbone porteurs de fonctions hydroxyle ($-CH_2O-$).

Après échange avec l'eau lourde, le spectre R.M.N. est inchangé ce qui confirme l'absence de fonctions OH libres.

L'intégration des différents pics du spectre confirme la présence de 8 protons $-CH_2O-$ pour 12 protons $CH_3-\overset{|}{Si}-$.

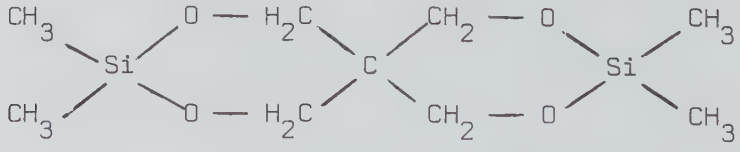
Etude en spectrométrie de masse :

On enregistre :

- un pic assez intense à la masse 248,
- deux pics de moindre intensité aux masses 233 et 218.

Le composé tenant compte des données fournies dans les trois domaines d'études physico-chimiques précédents, est le :

3,3,9,9, - Tétraméthyl - 3,9 - disila - 2,4,8,10 - tétra-oxaspiro (5.5) undecane, de formule :



Cette formule présente les liaisons et les groupements attendus. Elle est en accord avec les résultats enregistrés en spectrométrie de masse : le pic de masse 248 est le pic moléculaire et les pics 233 et 218 correspondent à cette molécule ayant perdu un ou deux groupements CH_3 fixés sur les atomes de silicium.

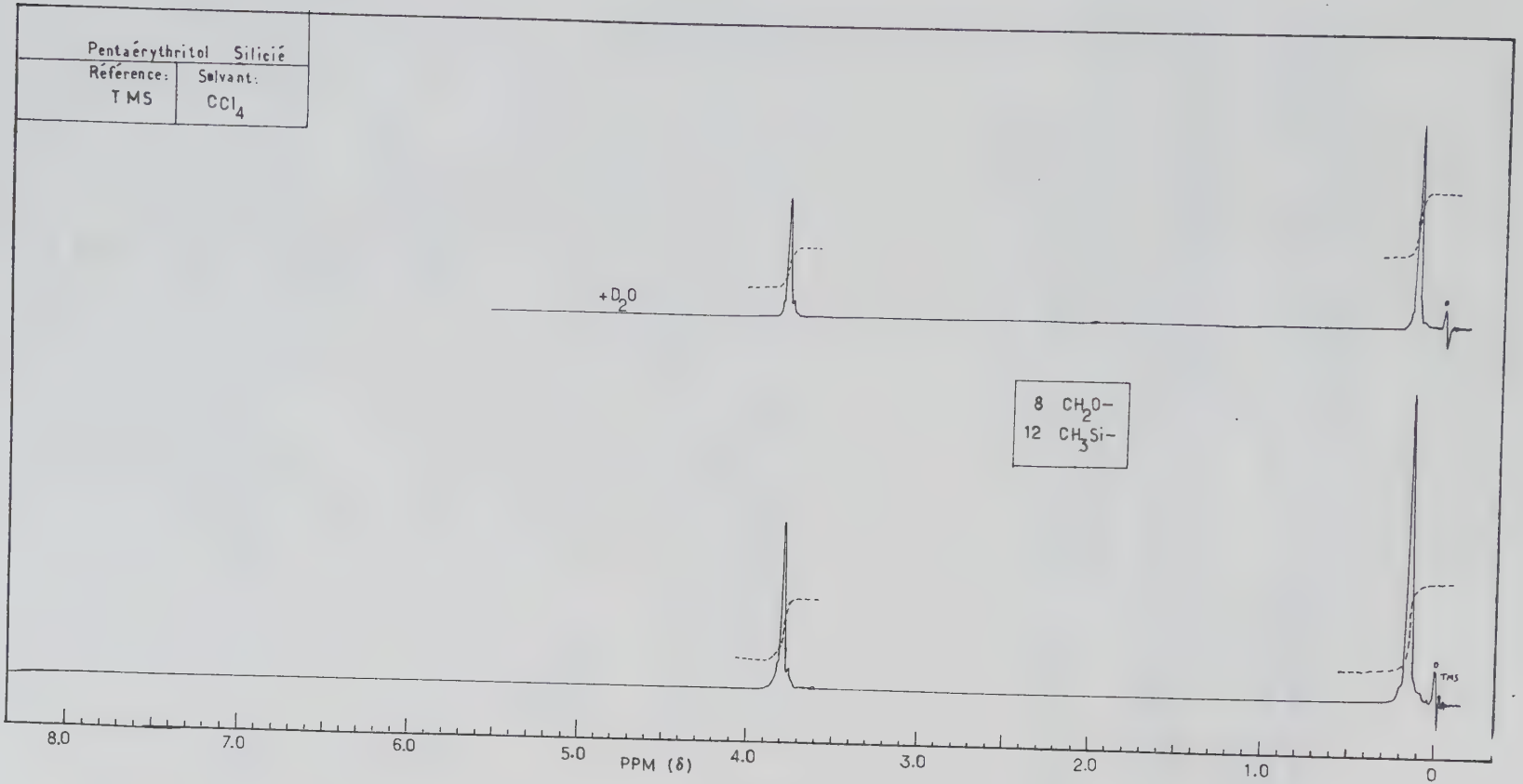

Pentaérythritol Silicié
Référence: TMS
Solvant: CCl_4
$+D_2O$
8 CH_2O-
12 CH_3Si-
TMS
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

FIG 16

La technique de condensation utilisée ne nous permet pas, dans le cas du pentaérythritol, d'obtenir un composé organosilicié possédant des fonctions hydroxyle libres.

Contrairement à ce que nous avons observé dans le cas de l'érythritol, ce produit ne peut être dissous à chaud, dans l'eau, en milieu neutre.

Si les dérivés précédents n'ont pas été synthétisés, du moins à notre connaissance, ce dérivé a été préparé par différents auteurs (9), (10).

---▫---

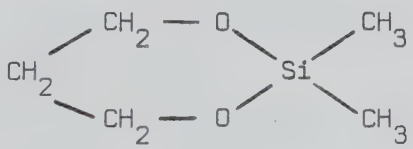
Chapitre II

ETUDE DU PRODUIT DE CONDENSATION DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE AVEC LE GLYCEROL MONOACETYLE (EN POSITION 1)

Aucun des produits que nous venons de décrire et d'étudier, ne donne lieu, contrairement au dérivé G.S. étudié dans la première partie, à une polymérisation. Alors que, pour le dérivé glycérosilicié, il existe deux possibilités de motifs structuraux, il n'en est pas de même dans les derniers composés.

D'autre part, les dérivés siliciés de deux propane-diols ont été synthétisés :

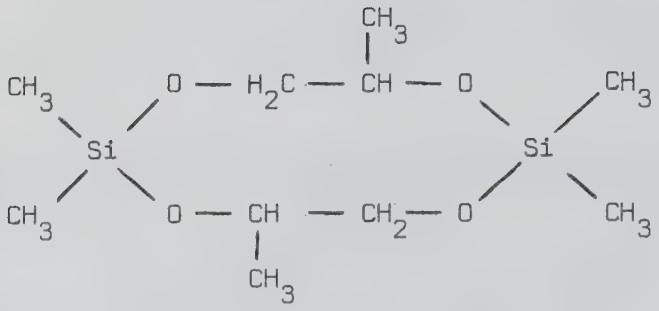
- le dérivé du propane diol - 1,3 par KRIEBLE (11) :



(I)

1,1 - Diméthyl - 1 - sila - 2,6 - dioxacyclohexane

- le dérivé du propane diol - 1,2 par NICOU (12) et par VORONKOV (15) :



(II)

1,1,3,6,6,8 - Hexaméthyl - 1,6 - disila - 2,5,7,10 - tetraoxacyclodecane.

Les deux diols, mis en expérience par ces auteurs, offrent apparemment une seule possibilité de structure. Or, le premier (I) existe à l'état de monomère, comme on peut s'y attendre d'après nos propres recherches, tandis que le second (II) se présente à l'état de dimère.

A la suite de ces observations et pour compléter notre expérimentation, nous avons réalisé la condensation entre l'hexaméthylcyclotrisilazane et le glycérol monocacetylé en position 1, laissant ainsi une seule possibilité de motif structural.

Le dérivé que nous avons obtenu est, comme nous allons le voir, un monomère.

A. MELANGE REACTIONNEL.

- glycérol monoacétate ..... 41,5g (0,31 mole) (Eb_3=129-130°C, n_D^{20} =1,4478)
- Hexaméthylcyclotrisilazane 23 g
- Diméthylformamide..... 25 g

La réaction de condensation stoecchiométrique est réalisée, comme les précédentes, par chauffage à 150°C pendant 20 heures.

B. DISTILLATION.

1) 23,2 g de diméthylformamide sont récupérés,

2) Fractionnement du produit de condensation :

- Fraction 1 : $Eb_{0,10}$= 60 à 100°C..... 2 g
- Fraction 2 : $Eb_{0,06}$= 103 - 105°C.. 50,5 g
- Fraction 3 : Résidus..... 5 g

La fraction 1 contient encore du diméthylformamide tandis que la fraction 3 est pratiquement identique à la fraction 2(dérivé de condensation).

C. ETUDE DE LA FRACTION 2. ($Eb_{0,06}$ = 103 - 105°C)

1) Caractères généraux : liquide incolore.

- n_D^{20} = 1,4435

- insoluble dans l'eau mais hydrolysé en milieu acide avec apparition d'un trouble d'huile de silicone extractible par l'éther.

- très soluble dans les solvants organiques.

2) Etude structurale :

Etude en spectroscopie I.R. (Fig. 17).

Cette étude permet de révéler :

- l'absence de bande OH à 3.400 cm^{-1}
- les bandes caractéristiques des vibrations de valence ν CH à 2.800 - 2.900 cm^{-1}
- à 1.740 cm^{-1}, la bande d'absorption caractéristique de la fonction carbonyle du groupement $-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_3$
- à 800, 860 et 1260 cm^{-1}, les bandes d'absorption caractéristiques de groupements CH_3 liés au silicium,
- enfin, à 1250 - 1.260 cm^{-1}, la large bande du vibrateur triatomique Si-O-C.

Etude en R.M.N. (Fig. 18) (solvant CCl_4, référence T.M.S.)

Sur le spectre R.M.N. on relève :

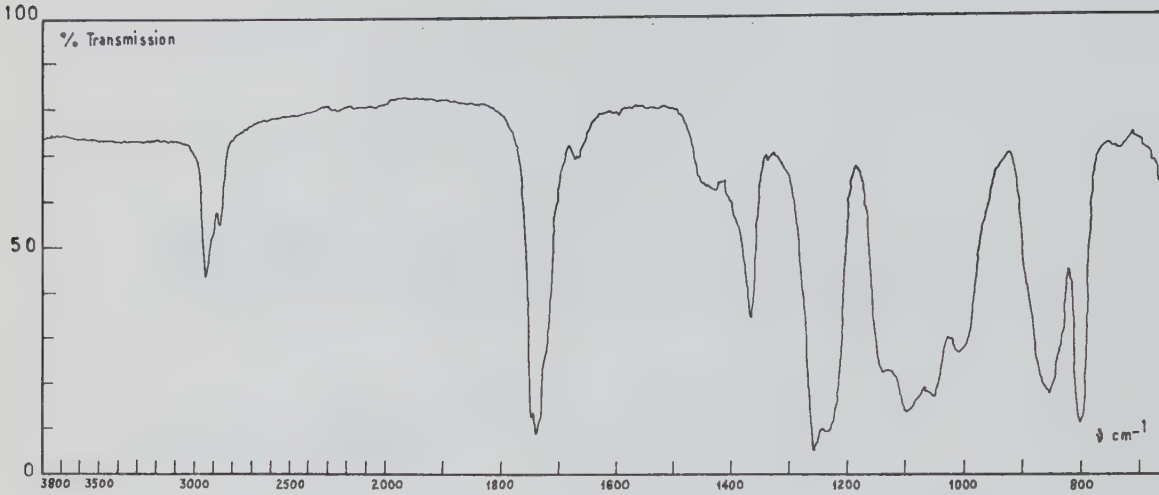

100
% Transmission
50
0
3800 3500 3000 2500 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800
ν cm⁻¹

FIG 17

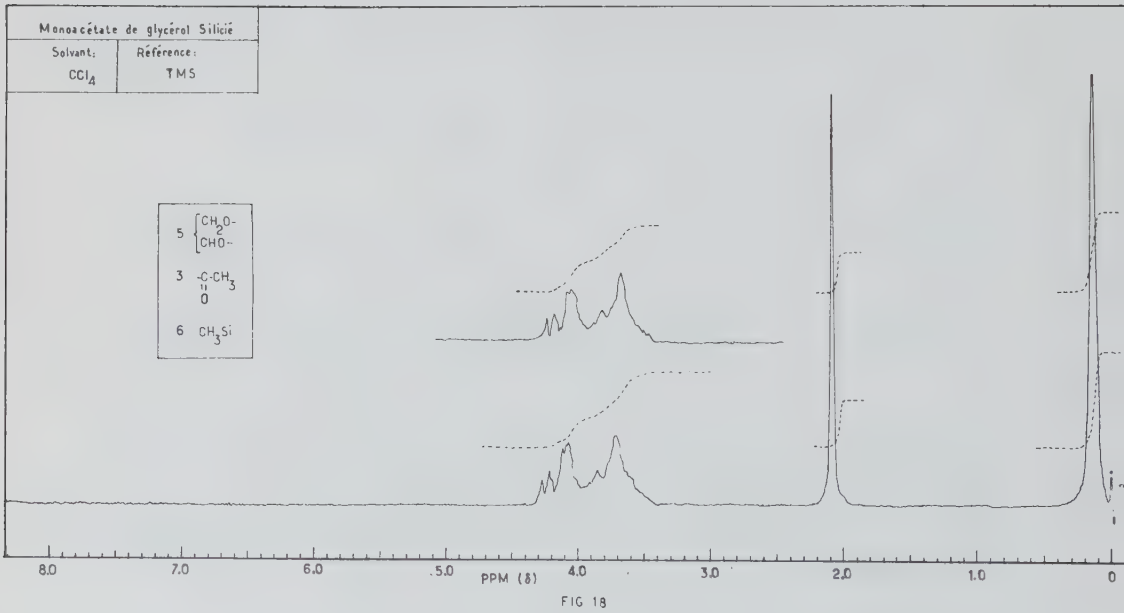

Monoacétate de glycérol Silicié
Solvant: CCl4
Référence: TMS
5 CH2O- CHO-
3 -C-CH3 O
6 CH3Si
8.0 7.0 6.0 5.0 PPM (δ) 4.0 3.0 2.0 1.0 0

FIG 18

- à 0,15 p.p.m., un pic correspondant au déplacement chimique des protons de groupements méthyle liés au silicium,
- à 2,10 p.p.m., un pic caractéristique des protons d'un groupement méthyl lié à une fonction carbonyle (groupement $-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_3$)
- entre 3,7 et 4,3 p.p.m. un massif correspondant aux protons liés aux atomes de carbone du glycérol ($-CH_2O-$, $-\underset{|}{C}HO-$).

Le spectre est identique après échange avec l'eau lourde ce qui montre l'absence de fonction hydroxyle libre.

L'intégration des différents pics du spectre donne les proportions suivantes :

5 protons { $-CH_2O-$; $>\underset{|}{C}HO-$ } pour { 3 protons $CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-$; 6 protons $CH_3-\overset{|}{Si}-$ }

Etude en spectrométrie de masse :

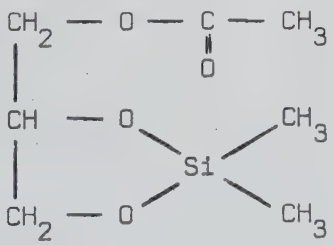
Nous avons enregistré :

- un pic à la masse 190,
- un pic très intense à la masse 117

Aucun pic ne suggère une dimérisation ni une polymérisation.

Le composé le plus compatible avec les données fournies par les trois domaines d'études physico-chimiques précédents est le :

1,1 - Diméthyl - 3 - (acétoxyméthyl) - 1 - sila - 2,5 - dioxacyclopentane, de formule :



PM = 190

On y retrouve les liaisons et les groupements attendus. Les proportions des différents protons sont en accord avec la R.M.N. De plus, cette formule est confirmée par la spectrométrie de masse : le pic de masse 190 est le pic moléculaire et le pic de masse 117 correspond au cycle dioxolanne.

Nous constatons que le composé obtenu, non décrit à notre connaissance, ne donne pas lieu à une polymérisation. Ceci, *dans le cas des composés étudiés*, est en faveur d'une relation entre le nombre de possibilités de motifs de structure et le phénomène de polymérisation.

---=---

Au cours de ce travail, nous avons pu constater la généralité de la réactivité de l'hexaméthylcyclotrisilazane sur différents polyols.

Nous avons pu synthétiser certains composés qui, à notre connaissance, n'avaient pas encore été décrits.

Si dans le cas des triols, nous avons obtenu, dans nos conditions expérimentales stoecchiomètriques, le composé attendu conservant une fonction hydroxyle libre, il n'en a pas été de même en ce qui concerne les tétrols. En effet, dans leur cas, les quatre fonctions hydroxyle sont entrées en réaction.

Les dérivés des triols, qui possèdent, comme le composé dérivant du glycérol,une fonction hydroxyle libre, sont hydrosolubles, ce qui n'est pas le cas des tétrols. A chaud, seulement, l'alcoxysilane de l'erythritol est hydrosoluble.

A la différence du produit G.S., tous ces organosiliciés ont une structure parfaitement définie et ne donnent lieu à aucun phénomène de polymérisation.

---=---

T R O I S I E M E P A R T I E

ESSAIS D'APPLICATION PHARMACODYNAMIQUE DANS L'ATHEROME EXPERIMENTAL DU LAPIN

Le phénomène d'athérosclérose, observé spontanément chez l'homme, peut être reproduit expérimentalement chez l'animal par des agressions de natures très diverses. Le régime hypercholestérolé constitue la technique la plus fréquemment utilisée. Parmi les autres méthodes, l'agression immunologique offre une voie d'abord originale dans ce domaine (69,70).

Une des atteintes les plus précoces, au cours de la maladie athéroscléreuse, semble être celle qui affecte la paroi artérielle de l'aorte. L'athérome est généralement attribué à une infiltration lipido-cholestérolée et, au cours des derniers stades, à une surcharge en calcium de la paroi artérielle. Quatre étapes majeures permettent de schématiser l'évolution de l'artère :

- une désorganisation du tissu conjonctif,
- l'infiltration des lipides sanguins,
- la réaction de fibrinogénèse intensive de la paroi,
- enfin, les différentes complications de l'artère ainsi altérée (calcification, etc...)

De nombreux travaux (16) (17) (18) (68) permettent de considérer le silicium comme un élément important dans la constitution du tissu conjonctif et élastique (collagène et élastine) ainsi que de la substance fondamentale de l'aorte.

Ces dernières années, J et J. LOEPER (18), (19) ont nettement montré en étudiant les variations du silicium aortique chez le lapin au cours de l'athérome expérimental, l'importance de la corrélation existant entre le taux de cet oligo élément et le degré d'altération de la paroi artérielle. Ces auteurs enregistrent une chute du taux de silicium dans l'aorte dès les premières atteintes athéromateuses alors que le degré d'infiltration lipidique, confirmé par des examens histologiques, s'avère modéré.

De plus, la teneur en silicium de l'élastine varie de façon inversement proportionnelle du degré d'altération des fibres élastiques.

L'administration simultanée, chez l'animal, d'un régime hypercholestérolé et de dérivés siliciés minéraux ou organiques, permet de maintenir l'intégrité des fibres élastiques et de diminuer le degré d'infiltration lipidique de la paroi artérielle.

Or le même traitement a pour effet de freiner de façon significative la diminution de la teneur en silicium de l'aorte.

Les effets préventifs semblables, d'un composé organosilicié, vis-à-vis de l'athérome expérimental du lapin, ont été retrouvés par GENDRE (20).

Un double rôle physiologique du silicium aortique semble clairement établi :

- il interviendrait, d'une part, dans le maintien d'une imperméabilité sélective de l'aorte ou des grosses artères vis-à-vis de substances nocives tels que les lipides d'origine plasmatique. En 1953, HOLT et OSBORNE (21) avaient d'ailleurs constaté que l'acide silicique diminue la perméabilité du tissu conjonctif traité par l'hyaluronidase ; et ce fait a été vérifié par LOEPER qui a montré que la diffusion d'un colorant dans le derme d'un lapin est inhibée par des faibles quantités de silicate de sodium.

- d'autre part, le silicium assurerait, en tant que constituant du tissu élastique normal, le maintien des fibres élastiques de l'aorte. Les tentatives d'explications sur son rôle lors de l'attaque des fibres élastiques,

au cours des processus athéroscléreux, sont nombreuses et ne dissimulent pas leurs lacunes. Une des hypothèses les plus souvent retenues fait intervenir une diminution, sous l'influence du silicium, de l'activité élastolytique de l'élastase dont l'origine et la régulation pancréatique ont été démontrées par BALO (22).

Le silicium apparaît ainsi comme un élément dont la présence est liée à l'intégrité de structure des grosses artères. Mais, quel est le lien entre les variations constatées dans le taux du silicium artériel et les dérèglements métaboliques observés au cours du processus athéroscléreux ? Au cours de l'athérosclérose spontanée ou expérimentale, le taux des différents paramètres lipidiques n'est pas systématiquement en rapport direct avec le degré des lésions athéroscléreuses.

Il est frappant de constater que si un traitement silicié, administré simultanément à un régime hypercholestérolé, permet la conservation des structures artérielles, il ne modifie en aucun cas sur le plan quantitatif :

- d'une part, le taux des différents paramètres lipidiques du plasma (20),
- d'autre part, le taux des lipides totaux de la paroi artérielle (19).

Il semble donc que, par un processus biochimique inconnu, le silicium permette aux tissus artériels de tolérer une surcharge lipidique. La variation du taux de silicium artériel est-elle une réaction déclenchante des processus de défense, ou bien constitue-t-elle, par elle même, un moyen de défense qui se trouverait favorisé par l'administration d'un dérivé silicié ?

Les dérèglements métaboliques accompagnant le phénomène d'athérosclérose ont été très étudiés au cours de ces dernières années. Les modifications au niveau du sérum et de la paroi aortique de paramètres enzymatiques (hydrolases, déshydrogénases) touchant différents métabolismes ont particulièrement retenu notre attention. ZEMPLENYI et coll . (23) (24) ont étudié ces paramètres, sur la paroi artérielle, dans l'athérosclérose humaine. Ils soulignent comme variations les plus fondamentales et les plus nettes l'augmentation des phosphomonoestérases I et II

(PME I et PME II), de la β-glucuronidase et la diminution de la lacticodéshydrogénase. Des modifications intéressant le potentiel enzymatique au niveau humoral et pariétal sont également constatées dans l'athérosclérose expérimentale du lapin réalisée par voie immunologique (25).

Des études comparatives effectuées chez l'animal dans l'athérosclérose expérimentale montrent, vis-à-vis d'une même agression lipidique, la haute résistance de la paroi aortique du rat par rapport à celle du lapin. Or le rat, dont la résistance à l'athérosclérose expérimentale est bien connue, possède, au niveau humoral et pariétal, un équipement enzymatique tout à fait exceptionnel.

Pour les différentes raisons que nous venons de citer, les variations enzymologiques, jalonnant l'évolution de la maladie athéroscléreuse, nous ont paru d'un très grand intérêt.

Pour essayer d'apprécier les effets à la fois préventifs et curatifs du dérivé glycérosilicié (produit G.S.) outre les études anatomopathologiques, nous avons effectué deux types d'investigations biochimiques :

- des études enzymologiques au niveau humoral et pariétal,
- l'étude de certains paramètres classiques du métabolisme lipidique au niveau humoral.

Par ailleurs, des constatations effectuées par GENDRE (20) sur les modifications du rapport : $\frac{\text{acides gras saturés}}{\text{acides gras insaturés}}$ observé pour les acides gras estérifiant les lipides totaux, au niveau du sérum, nous ont amené à une étude approfondie des acides gras estérificateurs des différentes fractions lipidiques du sérum.

Nous espérons ainsi établir une corrélation entre la participation métabolique d'un dérivé silicié et le rôle joué par ce dérivé dans le maintien des structures fondamentales de la paroi artérielle, ce qui fera l'objet d'une étude histologique.

---=---

Chapitre I

MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL.

Notre étude a porté sur 57 lapins race "fauves de Bourgogne" d'un poids moyen de 2,500 kg et âgés de 5 mois 1/2 en début d'expérimentation.

Les animaux sont répartis en cinq séries :

- série C H O : animaux soumis à un régime hypercholestérolé administré par voie buccale,
- série S E C : animaux auxquels, en vue de déceler une éventuelle action préventive du dérivé glycérosilicié étudié, le régime hypercholestérolé et le traitement silicié sont administrés simultanément,
- série C P S : animaux pour lesquels le traitement silicié, dont on recherche les effets curatifs, est effectué après arrêt d'un régime hypercholestérolé dont la durée a été la même que celle des séries CHO et SEC.
- série S I L : animaux pour lesquels le traitement silicié est administré simultanément à une ration alimentaire normale afin de rechercher les modifications biologiques et anatomopathologiques qui pourraient en résulter. Cette série sera comparée à la série T C S et en cas de modifications, servira de témoin aux séries SEC et CPS,

- série T C S : elle constitue le lot témoin pour les quatre séries précédemment définies.

Pour chaque série expérimentale, nous avons indiqué, dans le tableau II, le nombre d'animaux étudiés ainsi que les poids moyens enregistrés au cours des différentes phases de l'expérimentation.

II. PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

1°. *Régime alimentaire et traitement silicié :*

a) Régime alimentaire normal : ration quotidienne composée de 100 g de granulés d'aliments complets,

b) Régime alimentaire hypercholestérolé : ration quotidienne de 100 g de granulés contenant 1 g de cholestérol pour 99 g d'aliments complets,

c) Traitement silicié : il est réalisé par voie intraveineuse à l'aide d'une *solution de G.S.*

- Solution injectable à 1 g p. 100 ml de produit glycérosilicié G.S. : 10 g de produit glycérosilicié G.S. sont dissous (1 heure à 100°C) dans un litre de sérum physiologique (pH = 7,2). La solution limpide obtenue est stérilisée et rendue apyrogène (*).

- Dose administrée : trois fois par semaine, un injection I.V. de 2 ml de solution de G.S. est pratiquée dans la veine marginale de l'oreille du lapin.

2°. *Conduite de l'expérimentation :*

Des travaux récents (25) effectués chez le lapin, montrent que le taux des paramètres biologiques est sous la dépendance de l'âge des animaux. Pour éliminer, lors de chaque contrôle biologique, l'influence d'un tel facteur, notre expérimentation, dans chaque série, a débuté sur des animaux de même âge. Elle est poursuivie pendant seize semaines. Les animaux sont sacrifiés en fin d'expérimentation.

(*) *Nous remercions le laboratoire POLMA qui a bien voulu se charger de la préparation du soluté apyrogène.*

SERIES	Nombre de lapins en début d'expérimentation	Survivants en fin d'expérimentation	Poids moyens en début d'expérimentation	Poids moyens 8ème semaine	Poids moyens 16ème semaine
C.H.O.	15	13	2,580 kg	3,150 kg	3,600 kg
S.E.C.	14	14	2,600 kg	3,000 kg	3,400 kg
C.P.S.	14	14	2,500 kg	3,000 kg	3,400 kg
S.I.L.	8	8	2,500 kg	3,000 kg	3,400 kg
T.C.S.	6	6	2,500 kg	3,000 kg	3,400 kg

Tableau II : Lapins mis en expérimentation.

D'autre part, pour tenir compte du fait que les effets recherchés sur le plan thérapeutique sont de deux ordres : effet préventif (série SEC) et effet curatif (série CPS), l'expérimentation doit se dérouler en deux stades successifs. La durée de chacun a été fixée à huit semaines pour toutes les séries, ce qui nous permet, les prélèvements étant effectués à la fin de chaque stade, d'effectuer une étude comparative des prélèvements biologiques et histologiques chez des animaux de même âge.

La nature du régime alimentaire, le traitement silicié, ainsi que leur durée d'administration sont indiqués dans le tableau III.

- *Contrôles biochimiques :* Ils sont pratiqués : (tableau IV).
  - en début d'expérimentation (départ), sur le sérum,
  - à la fin du premier stade de l'expérimentation (8ème semaine), sur le sérum,
  - en fin d'expérimentation (16ème semaine), sur le sérum et sur l'aorte.

- *Contrôles histologiques :* Ils sont effectués en fin d'expérimentation (16ème semaine) sur la paroi artérielle de la crosse de l'aorte des animaux sacrifiés.

1°. Dans le sérum :

Notre étude a porté sur :

a/ Six enzymes d'action catalytique et de signification métabolique différentes :

2 hydrolases	N-acétyl-β-glycosaminidase	(N-acétyl-β-glyc)
	β-Glycuronidase	(β-Glyc)
4 oxydoréductases	- Glucose-6-phosphate déshydrogénase	(G_6P.D.H.)
	- 6-Phosphoglucono déshydrogénase	(6^-P.Gl.D.H.)
	- Lactico déshydrogénase	(L.D.H.)
	- Isocitrique déshydrogénase	(I.C.D.H.)

Nous avons suivi dans le sérum l'évolution de ces enzymes au cours de l'expérimentation.

Traitement / Séries	Régime alimentaire hyper-cholestérolé	Régime alimentaire normal	Traitement silicié
C H O	1ère à 8ème S	9ème à 16ème S	non
S E C	1ère à 8ème S	9ème à 16ème S	1ère à 8ème S
C P S	1ère à 8ème S	9ème à 16ème S	9ème à 16ème S
S I L	non	1ère à 16ème S	1ère à 8ème S
T C S	non	1ère à 16ème S	non

Tableau III : Traitement des animaux dans chaque série animale (S = Semaine).

b/ Trois paramètres classiques du métabolisme lipidique :

- Cholestérol,
- Test de Burstein,
- Phospholipides.

Mesurés au départ et à la fin de la 8ème semaine d'expérimentation, ils sont uniquement destinés à *juger l'effet de surcharge* des paramètres lipidiques sériques à la suite du régime hypercholestérolé.

c/ en fin d'expérimentation : des prélèvements sont effectués afin de constituer, dans chaque série animale, un "pool de sérum" pour l'étude des acides gras entrant dans la composition de quatre fractions lipidiques : acides gras libres, stérides, phospholipides et glycérides.

2°. Dans la paroi aortique :

L'étude, d'ordre exclusivement enzymologique, a porté sur les enzymes précédemment cités et sur :

- la malico déshydrogénase (M.D.H.),
- les isoenzymes de la lactico déshydrogénase (fractions du zymogramme),
- sur les phosphatases alcalines (phosphomonoestérases I : PME I) et les phosphatases acides (phosphomonoestérases II : PME II).

Les résultats de l'étude biochimique seront confrontés avec les résultats de l'examen histologique de la paroi aortique.

- *Techniques de dosage utilisées au cours de l'étude biochimique :*

Comme nous venons de l'indiquer notre travail a porté sur :

- des paramètres classiques du métabolisme lipidique au niveau du sérum,
- l'étude particulière, par chromatographie en phase gazeuse, des acides gras entrant dans la composition de quatre fractions lipidiques,

- des paramètres enzymatiques, touchant difrérents métabolismes, au niveau du sérum et de l'aorte.

A. DOSAGES DES PARAMETRES LIPIDIQUES CLASSIQUES.

1°. Cholestérol :

La technique utilisée est une adaptation de la méthode FERRO et HAM (26) (27). Les résultats sont exprimés en g de cholestérol par litre de sérum.

2°. Phospholipides :

Ils sont dosés par la technique de CONNERTY et coll. (28). Les résultats sont exprimés en g par litre de sérum.

3°. Test de BURSTEIN :

Il est effectué suivant la technique de BURSTEIN et SAMAILLE (29). Les résultats sont exprimés en unités Vernes.

B. ETUDE PARTICULIERE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE DES QUATRE FRACTIONS LIPIDIQUES : ACIDES GRAS LIBRES - STERIDES - PHOSPHOLIPIDES - GLYCERIDES.

Ils ont été effectués (cf. tableau IV) sur des "pools de sérum" à la fin de la seizième semaine de l'expérimentation.

En raison des critiques méthodologiques souvent formulées dans ce type de dosage, nous avons tenu à exposer, dans tous ses détails notre protocole opératoire.

1°. Extraction des lipides du sérum de lapin :

4 ml de sérum sanguin ("pool") frais de lapin sont lyophilisés dans l'heure qui suit le prélèvement et conservés sous vide en ampoules scellées. Les lipides du sérum lyophilisé sont extraits selon la technique de KATZ et KEENEY (30) qui est une variante de la méthode de FOLCH (31). Les lyophilisats sont successivement traités par

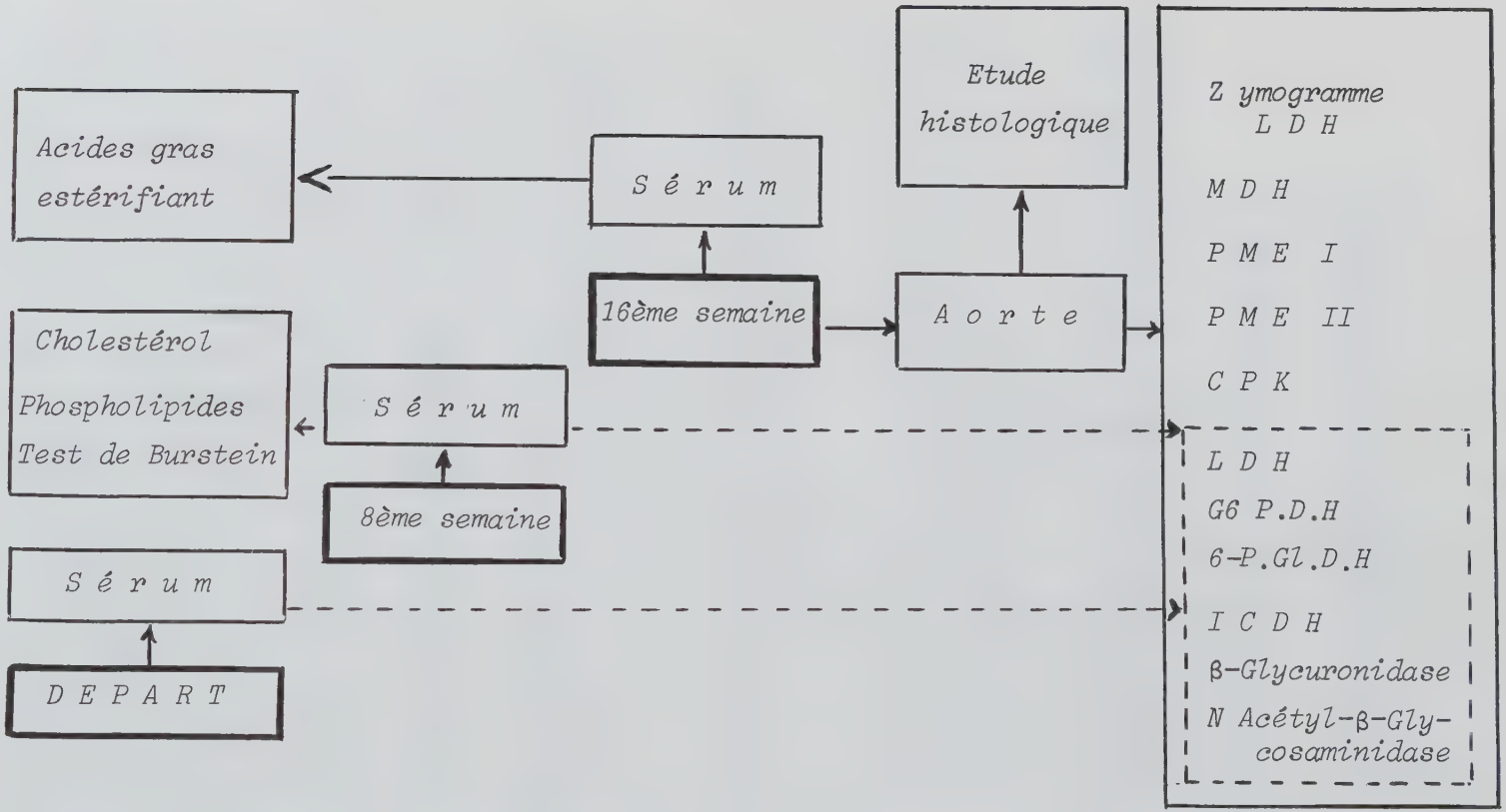


Tableau IV : Schéma des contrôles biochimiques et histologiques effectués en cours d'expérimentation.

le mélange chlorofome-méthanol (2/1, v/v) à chaud, sous reflux et sous courant d'azote pendant 1 h 30, puis par le méthanol sous reflux pendant 1 h. Après filtration, les deux extraits réunis sont évaporés au bain-marie, sous vide, repris par du chloroforme et lavés à l'eau jusqu'à limpidité de la phase organique. Celle-ci séchée sur sulfate de sodium anhydre, est évaporée sous vide.

2°. Séparation des fractions lipidiques :

Les lipides sont repris par 10 ml d'hexane en vue d'effectuer une séparation des quatre fractions lipidiques :

- Stérides,
- Glycérides (monoglycérides, diglycérides, triglycérides),
- Acides gras libres,
- Phospholipides.

a/ Chromatographie sur colonne de Florisil (silicate de magnésium activé) :

CREECH (32) propose, pour fractionner les lipides, une chromatographie sur colonne de Florisil (colonne de 1 cm de diamètre contenant 12 g de Florisil conservé au dessicateur et préalablement activé à l'étuve à 100°C pendant 24 h.)Le schéma d'élution est indiqué dans le tableau V.

Pour séparer les quatre fractions précitées, nous avons utilisé le système d'élution indiqué dans le tableau VI.

Les colonnes de Florisil sont lavées successivement au méthanol (solvant le plus polaire utilisé dans notre système d'élution), puis à l'hexane jusqu'à absence de méthanol dans l'éluat chromatographique.

La solution hexanique de lipides est introduite dans la colonne et on procède à la séparation des quatre fractions.

b/ Chromatographies sur couche mince (33) :

Comme le montrent le tableau VI et la figure 19, les fractions éluées sur colonne de Florisil sont le plus

Lipides obtenus dans l'éluat	*Eluant*	*Volume utilisé*
Cérides	Hexane	20 ml
Stérides	5 % d'éther dans l'hexane	50 ml
Triglycérides	15 % d'éther dans l'hexane	75 ml
Cholestérol	25 % d'éther dans l'hexane	60 ml
Diglycérides	50 % d'éther dans l'hexane	60 ml
Monoglycérides	2 % de méthanol dans l'éther	75 ml
Acides gras libres	4 % d'acide acétique dans l'éther	75 ml

Tableau V : Schéma d'élution d'une colonne de FLORISIL selon la technique de CREECH.

Fractions lipidiques éluées	*Eluants*	*Volume de l'éluant*	*Eluats*
Cérides + Stérides	5 % d'éther dans l'hexane	50 ml	E_1 E_2
Triglycérides + Diglycérides (+ stérols)	50 % d'éther dans l'hexane	60 ml	E_3 E_4
Diglycérides + Monoglycérides (+stérols)	2 % de méthanol dans l'éther	60 ml	E_5 E_6
Monoglycérides + Acides gras libres	4 % d'acide acétique dans l'éther	70 ml	E_7 E_8
Phospholipides	Méthanol	100 ml	E_9 E_{10}

Tableau VI : Système d'élution utilisé dans notre expérimentation.

souvent des mélanges renfermant deux classes lipidiques. C'est pourquoi chaque éluat est repris par chromatographie sur couche mince de silicagel G selon STAHL (34).

Les plaques sont préparées à l'applicateur de Saga. Le solvant utilisé est le système ternaire : hexane/éther éthylique/acide acétique (90/10/1, v/v/v). La figure 19 indique la composition lipidique de chaque éluat.

L'identification des différentes zones obtenues est effectuée par comparaison de leur Rf (rapport frontal) à celui de produits de référence. Chaque éluat E_n est déposé entièrement au bas d'une plaque en une ligne continue. Après chromatographie, on révèle une petite bande verticale de chaque plaque. Chaque zone, non soumise à la pulvérisation des réactifs, est râclée et éluée à chaud par le méthanol. On regroupe ainsi les stérides, la totalité des glycérides (M.G., D.G., T.G.) les acides gras libres (AGL) et les phospholipides (P.L.) Ces élutats vont permettre, après estérification méthanolique, l'étude des acides gras entrant dans la composition des quatre catégories lipidiques étudiées.

Révélation des zones des chromatogrammes : Les révélateurs utilisés sont :

α) *Les vapeurs d'iode* qui donnent une coloration jaune brun, avec les lipides neutres peu réactionnels ainsi qu'avec les A.G.L.

β) *Le révélateur de VASKOVSKII (35)* solution acide de molybdate d'ammonium qui donne avec les phospholipides une coloration bleue.

3°. Etude des acides gras de chacune des quatre catégories lipidiques étudiées :

Généralement, les diverses catégories lipidiques sont soumises à une saponification par la potasse méthanolique normale, puis les acides gras sont libérés par acidification et estérifiés.

La technique de METCALFE et SCHMITZ (36), utilisant le trifluorure de bore BF_3 comme catalyseur, donne d'excellents résultats, mais la solution méthanolique de BF_3 est un réactif d'emploi délicat. De nombreux auteurs

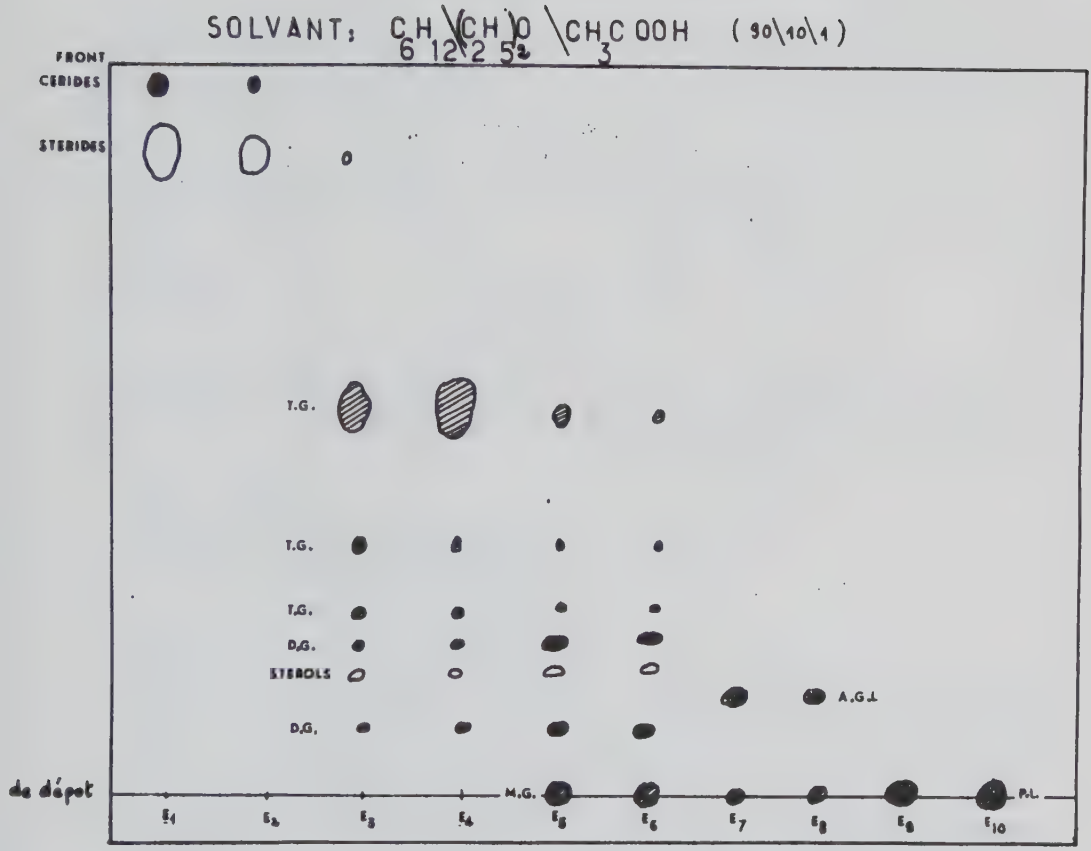


FIG 19 : CHROMATOGRAMMES sur couches minces de Silicagel G selon STAHL des fractions obtenues par élution d'une colonne de Florisil

ont signalé qu'une solution trop concentrée, ou de préparation un peu ancienne, conduit à des artefacts. Avec une solution trop concentrée (37), les acides insaturés sont en partie détruits.

a/ Etude de la fraction acides gras libres (fraction lipidique A.G.L.)

Nous avons conservé la technique de méthylation catalytique au BF_3 en raison de son rendement élevé pour les A.G.L. qui représente une fraction quantitativement minime des lipides totaux.

L'éluat correspondant est évaporé sous vide et repris par du réactif méthanol - BF_3 à 8 % (p/v) à raison de 0,5 ml de réactif pour :

- 10 mg d'A.G.L. environ,
- 4 ml de méthanol anhydre.

Une telle concentration de BF_3 dans le réactif évite les risques d'artefacts et de destruction des acides gras libres insaturés.

Le mélange est chauffé au reflux pendant 3 mn.

b/ Etude des acides gras entrant dans la composition des stérides, des phospholipides et des glycérides.

Ces trois fractions lipidiques étant quantitativement plus importantes, nous avons préféré une technique de transestérification directe.

Après évaporation sous vide, les éluats lipidiques de chacune des trois fractions sont laissés deux heures au contact de 10 ml d'une solution d'acide sulfurique concentré à 5 p. 100 dans le méthanol (v/v) à 85°C sous reflux en présence d'un cristal d'hydroquinone pour éviter l'oxydation des acides gras polyinsaturés (38).

Quel que soit leur mode d'obtention, les esthers méthyliques sont extraits par l'éther éthylique. La phase éthérée est lavée plusieurs fois à l'eau distillée jusqu'à neutralité, séchée sur sulfate de sodium anhydre, puis évaporée à sec sous vide.

Les esters méthyliques sont repris par un volume minimum de chloroforme et dosés par chromatographie en phase gazeuse.

c/ Etude des esters méthyliques par chromatographie en phase gazeuse (esters des acides mentionnés aux paragraphes a et b).

La phase stationnaire utilisée est du succinate de diéthylène glycol (D.E.G.S.), produit polaire, qui permet une excellente séparation des différents esters méthyliques saturés et insaturés.

Les conditions de chromatographie sont rassemblées ci-dessous :

- CHROMATOGRAPHIE : HEWLETT - PACKARD F et M 5750;
- COLONNE :
  - longueur : 3 mètres,
  - diamère : $\frac{1}{8}$ pouce
  - phase : D.E.G.S. à 10 % sur chromosorb G
  - gaz vecteur : N_2 Pression 2,8 bars
- TEMPERATURES :
  - injecteur : 280°C
  - détecteur : 300°C
  - colonne : 200°C
- DETECTEUR : ionisation de flamme
  - air Pression 1,8 bars
  - hydrogène Pression 1,6 bars
  - volume injecté : 3 à 5 microlitres de solution chloroformique.

Pour identifier les acides gras, nous avons effectué une chromatographie de substances étalons connues, renfermant des esters méthyliques d'acides saturés et insaturés, dans les mêmes conditions que les échantillons étudiés.

Ce mélange étalon a été également chromatographié sur colonne apolaire de silicone (U.C.C.W. 982 à 10 %, sur chromosorb W) qui sépare les esters saturés des insaturés sans distinction du nombre de doubles liaisons.

La comparaison, pour les esters méthyliques étalons, des deux chromatogrammes nous permet de connaître,

sans confusion possible, les temps de rétention des acides saturés et insaturés.

Dans une série homologue comme celle des acides gras, le logarithme du temps de rétention réduit (tenant compte des volumes morts de l'appareil) des différents solutés est une fonction linéaire du nombre d'atomes de carbone des différents solutés. Pour les acides insaturés mono et polyéthyléniques, on peut déterminer des longueurs de chaîne équivalentes (39). Toutes ces déterminations ont été effectuées sur papier semi-logarithmique. Les acides gras non identifiés seront exprimés en nombre x d'atomes de carbone équivalents à leur temps de rétention : nC_x.

C. DOSAGE DES PARAMETRES ENZYMATIQUES AU NIVEAU DU SERUM ET DE L'AORTE.

La détermination des activités enzymatiques de la paroi aortique est effectuée à partir d'un *extrait aortique* ainsi préparé :

Les aortes sont dépouillées de leur adventice, pesées et placées dans une solution isotonique de chlorure de sodium à 4°C à raison de 2ml pour 100 mg de poids d'aorte, puis, elles subissent, dans les minutes qui suivent :

- un broyage de quelques secondes (Ultraturrax, marque JANKE et KUNKEL, 25000 tours minutes) réalisé en trois fois pour éviter un échauffement du broyat.
- une centrifugation à 4°C et à 5000 g pendant 15 mn.

Les dosages des activités enzymatiques sont pratiqués immédiatement après centrifugation.

Les techniques utilisées pour les déterminations enzymologiques sont les suivantes :

- phosphatases alcalines et acides (P.M.E. I et P.M.E.II) : détermination par voie autoanalytique de CROCKETT et coll. (40) (42).
- N-acétyl-β-glycosaminidase : méthode de WALKER et coll. (49).

- β-glycuronidase : méthode de FISHMAN et coll. (41)
- Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G_6 P.D.H.), 6-phosphogluconodéshydrogénase (6-P.Gl.D.H.) , isocitrique déshydrogénase (I.C.D.H.) et malicodéshydrogénase (M.D.H.): méthodes spectrophotométriques dans l'ultra-violet à 340 nm (44) (45).
- lacticodéshydrogénase (L.D.H.) : adaptation semi-automatique programmée de la méthode cinétique à 340 nm de WROBLEWSKI et LADUE (43).
- fractions du zymogramme de la lactico-déshydrogénase : séparation électrophorétique des 5 isoenzymes de L.D.H. sur acétate de cellulose (bandes cellogel) selon le protocole récemment proposé par CROCKETT et coll. (48).
- créatine phosphokinase (C.P.K.) = méthode de ROSALKI (46) (47).

Ces activités enzymatiques sont exprimées comme suit :

- phosphatases, C.P.K., N-acétyl-β-glycosaminidase, en unités internationales par ml pour le sérum ou par mg de protéines pour l'aorte.
- déshydrogénases(G_6 P.D.H., 6-P.Gl.D.H., I.C.D.H., M.D.H., L.D.H.) en unités Wroblewski par ml pour le sérum ou par mg de protéines pour l'aorte.
- β-glycuronidase en unités Fishman pour 100 ml pour le sérum ou par mg de protéines pour l'aorte.

Dans tous les cas, les protéines extractibles sont exprimées en mg par litre d'extrait aortique. Leur dosage est effectué selon une technique d'adaptation de la méthode de FOLIN (54) modifiée par LOWRY et coll. (55).

IV. ETUDE HISTOLOGIQUE.

Les lésions macroscopiques de l'aorte sont évaluées en fonction de l'étendue du dépôt lipidique observé à la surface interne de l'aorte : pourcentage de surface occupée par le dépôt.

Dans les séries témoins SIL et TCS on note l'absence de lésions macroscopiques. Par contre, dans les séries CHO, SEC et CPS, les lésions macroscopiques occupent respectivement en moyenne : 15 %, 13,5 % et 18 % de la surface interne de l'aorte. La faible différence entre ces moyennes provient davantage de variations individuelles (ce qui est à rapprocher de la variabilité biologique observée chez nos lapins) que de variations régulières dans les séries. C'est pourquoi, nous avons effectué une étude comparative sur le plan histologique en répartissant les animaux de chacun des trois lots CHO, SEC et CPS en deux sous-séries pour lesquelles les taux moyens de lésions sont équivalents :

- sous-série à lésions macroscopiques inférieures à 20 %
- sous-série à lésions macroscopiques supérieures ou égales à 20 %.

La zone prélevée dans l'aorte pour l'étude microscopique est sous-jacente aux lésions observées macroscopiquement.

Cinq colorations sont effectuées :

- Hématine - éosine - safran : H.E.S.
- Trichrome de Masson au bleu d'aniline,
- Coloration de Weigert (élastine),
- Coloration au noir Soudan - safranine après coupes en congélation (caractérisation des graisses),
- Coloration de Von Kossa : destinée à révéler les dépôts calciques, elle fut à chaque fois négative et nous ne la mentionnerons plus ultérieurement au cours des résultats expérimentaux.

Chapitre II

RESULTATS ET DISCUSSIONS DE L'ETUDE BIOCHIMIQUE

Dans un premier paragraphe, nous exposerons les résultats de l'étude concernant le métabolisme lipidique. Les résultats enzymologiques feront l'objet du second paragraphe.

I. PARAMETRES LIPIDIQUES.

A. PARAMETRES LIPIDIQUES CLASSIQUES.

Les résultats sont indiqués dans le tableau VII.

Des tests de Student sont effectués pour comparer, dans chaque série et pour chaque dosage, les moyennes du premier et du deuxième prélèvements. En fonction de la valeur du paramètre "t" de Student et compte tenu des nombres de degrés de liberté (n.D.L.) associés aux moyennes des deux prélèvements, nous avons calculé les probabilités d'arrivée "p" des moyennes de dosages du deuxième prélèvement que nous exprimons, dans la dernière colonne du tableau VII, par rapport aux seuils de signification suivants :

$p < 0,05$	symbole	o
$p < 0,02$	symbole	oo
$p < 0,01$	symbole	ooo
$p < 0,001$	symbole	oooo

Nous utiliserons ultérieurement le test de Student ainsi que ces modes d'expression statistique.

Le tableau VII appelle les commentaires suivants :

- d'une part, toutes les séries animales soumises à la diète cholestérolée, qu'elles aient reçu (série SEC) ou non (séries CHO et CPS) le traitement silicié, présentent des taux de lipides très significativement augmentés par rapport à leur taux de départ (1er prélèvement).
- d'autre part, les variations observées dans les trois premières séries (CHO, SEC, CPS) sont du même ordre pour les trois paramètres considérés. Une étude statistique comparant ces trois séries entre elles, n'a révélé aucune différence significative. En d'autres termes, le dérivé silicié G.S. (série SEC) n'a exercé aucun effet préventif quant à l'augmentation du taux sérique de ces divers paramètres.

Enfin, chez les animaux soumis au seul dérivé silicié (série SIL), la seule modification à la limite du degré de signification ($p < 0,05$) porte sur le taux des phospholipides qui sont diminués à la suite du traitement. Faut-il voir dans ce résultat une possibilité d'épargne des phospholipides par une éventuelle substitution du silicium au sein des macromolécules qui contiennent les restes phosphorylés ? ou bien s'agit-il d'une action directe déprimant la biosynthèse de cette fraction lipidique ?

Des investigations complémentaires devraient pouvoir éclairer cette hypothèse.

B. *ACIDES GRAS ENTRANT DANS LA COMPOSITION DES DIFFERENTES FRACTIONS LIPIDIQUES DU SERUM* (prélèvement de la 16ème semaine).

1°. *Chez le lapin normal* (série TCS) :

Dans le tableau VIII sont présentés les résultats de l'étude chromatographique chez l'animal témoin.

Les chromatogrammes correspondant sont représentés dans les fig. 20, 21, 22, 23.

	Séries	1° prélèvement		2° prélèvement		P	t	nDL	Sens des variations
		Moyenne	Ecart standard	Moyenne	Ecart standard				
Dosages Cholestérol	CHO	0,58	0,15	6,42	2,4	< 0,001 °°°°	8,75	24	↗
	SEC	0,59	0,11	5,97	3,92	< 0,001 °°°°	5,12	26	↗
	CPS	0,60	0,18	6,64	3,94	< 0,001 °°°°	5,72	26	↗
	SIL	0,67	0,23	0,98	0,31	Pas de signification	2	12	↗
	TCS	0,50	0,16	0,83	0,33	Pas de signification	2,20	10	↗
Test de BURSTEIN	CHO	14,9	1,9	75,0	219	< 0,001 °°°°	9,84	24	↗
	SEC	20,9	3,3	82,5	43	< 0,001 °°°°	5,23	26	↗
	CPS	15,9	3,5	84,5	40	< 0,001 °°°°	6,32	26	↗
	SIL	15,1	1,9	17,1	44	Pas de signification	1,08	12	↗
	TCS	14	1,8	15,5	49	Pas de signification	0,63	9	↗
Dosages Phospholipides	CHO	1,24	0,18	3,29	0,91	< 0,001 °°°°	7,85	24	↗
	SEC	1,12	0,16	2,99	1,39	< 0,001 °°°°	4,97	26	↗
	CPS	1,25	0,14	3,37	1,38	< 0,001 °°°°	5,68	26	↗
	SIL	1,31	0,22	0,99	0,22	< 0,05 °	2,60	12	↘
	TCS	1,05	0,19	1,04	0,21	Pas de modification	0,14	9	

Tableau VII : Evolution des paramètres classiques du métabolisme lipidique dans les 5 séries animales.

Fractions lipidiques / Acides gras	A.G.L.	Stérides	Phospholipides	Glycérides
$C_9+C_{10}+C_{11}$	0,3	traces	0,4	traces
C_{12}	1,2	traces	1,9	1,8
C_{14}	19,8	53,7	44,2	8,5
C_{15}	3,1	traces	2,2	0,7
C_{16}	29,3	7,6	17,6	28,1
$C_{16\ 1}$	2,1	1,7	11,8	2,4
$C_{16\ 2}$	0,6	traces	0,9	traces
$C_{16\ 3}$	0,1	2,4	0,6	1,5
C_{18}	16,0	1,7	8,2	4,4
$C_{18\ 1}$	21,9	8,9	10,1	27,7
$C_{18\ 2}$	4,9	11,7	1,5	12,2
C_{20}	0	5,6	0	traces
$C_{18\ 3}$	0,7	6,7	0,6	2,5
$n\ C_{21}$	0	0	0	traces
$n\ C_{21,6}$	0	0	traces	2,1
$n\ C_{23}$	0	0	0	8,1
AGS totaux	69,7	68,6	74,5	51,6
AGI totaux	30,3	31,4	25,5	48,4
$\frac{AGS}{AGI} =$	2,30	2,18	2,92	1,06

Tableau VIII : Acides gras (exprimés en %) entrant dans la composition des différentes fractions lipidiques de la série témoin T.C.S.

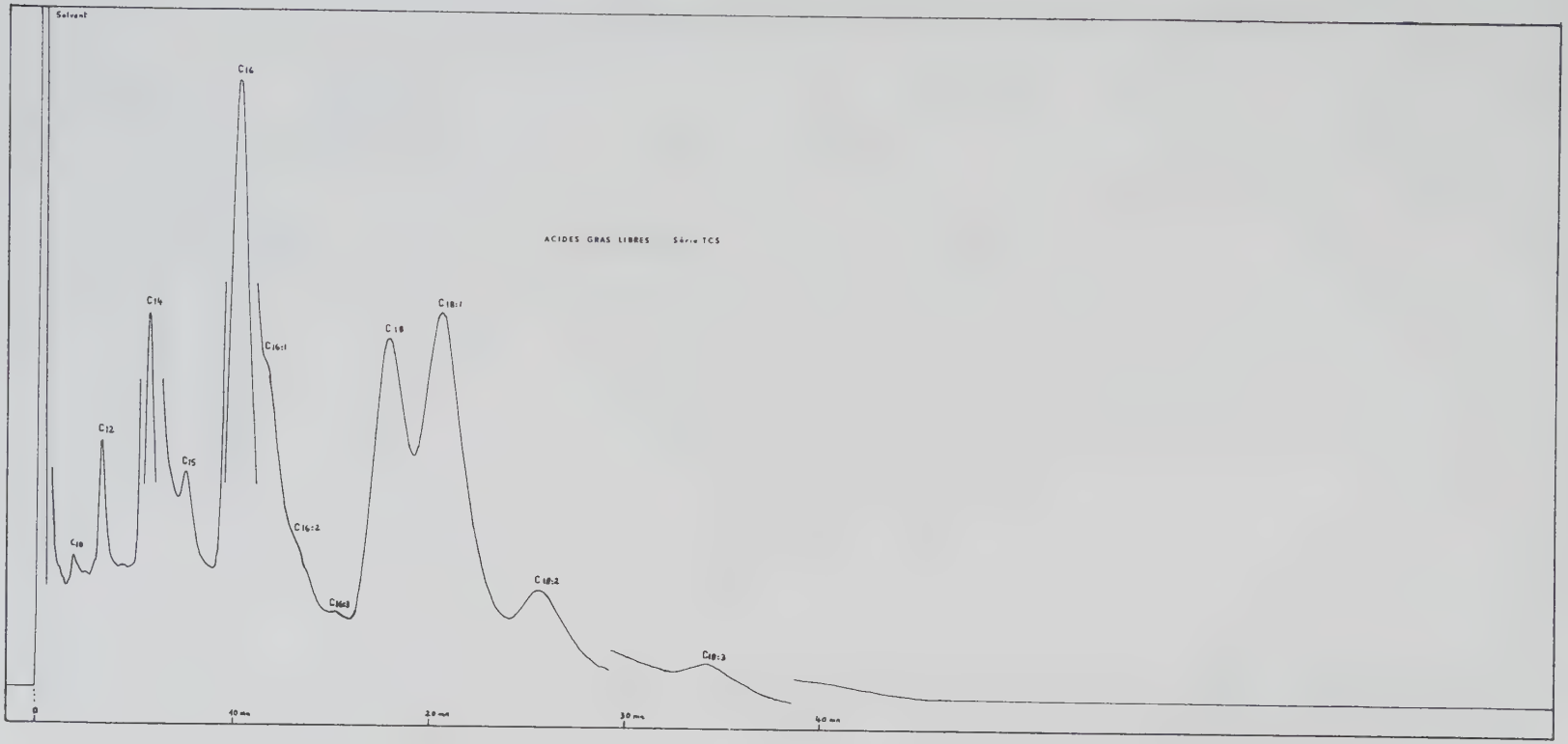

Solvant
ACIDES GRAS LIBRES Série TCS
C10
C12
C14
C15
C16
C16:1
C16:2
C16:3
C18
C18:1
C18:2
C18:3
0
40 mn
20 mn
30 mn
40 mn

FIG 20

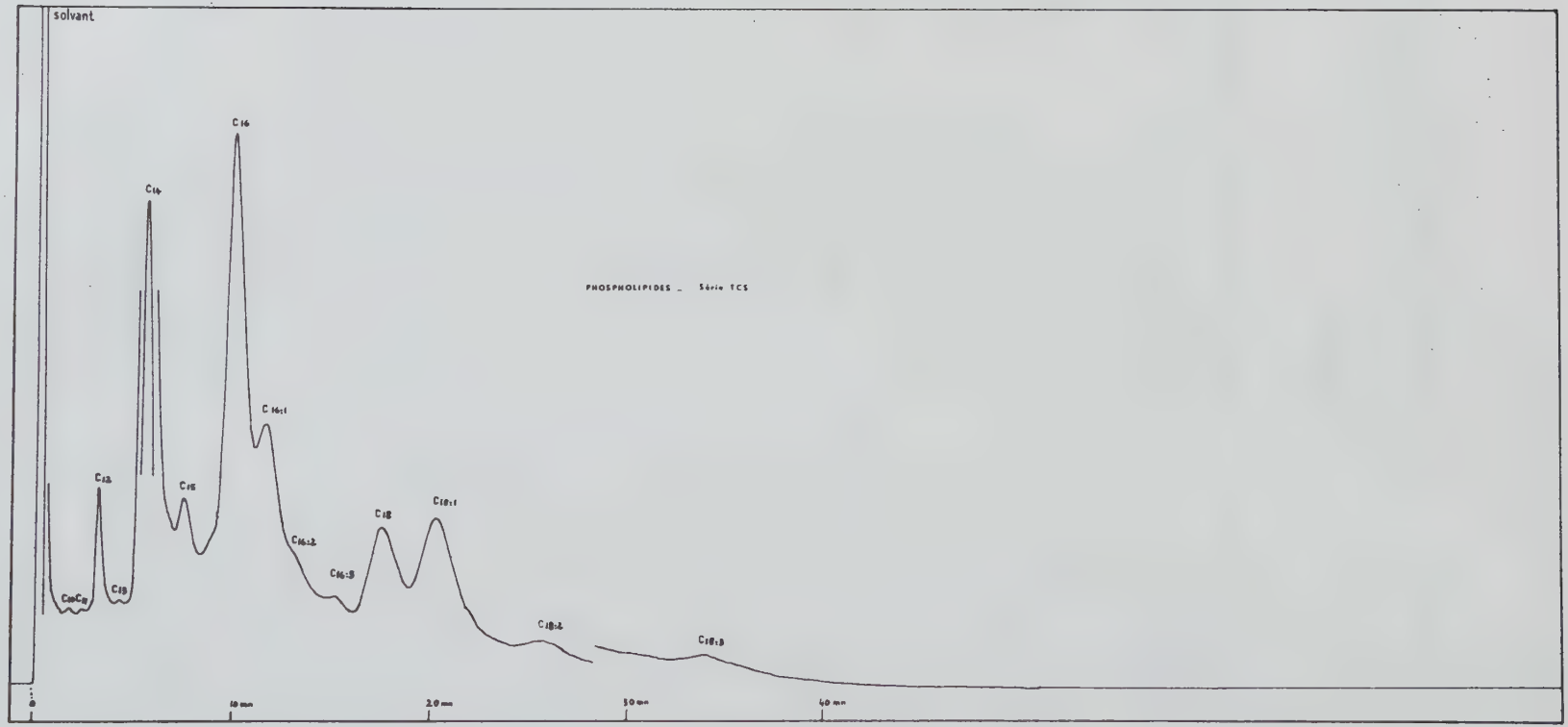

solvant
C16
C14
C16:1
C12
C15
C16:2
C16:3
C18
C18:1
C18:2
C18:3
PHOSPHOLIPIDES _ Série TCS
10 mn
20 mn
30 mn
40 mn

FIG 21

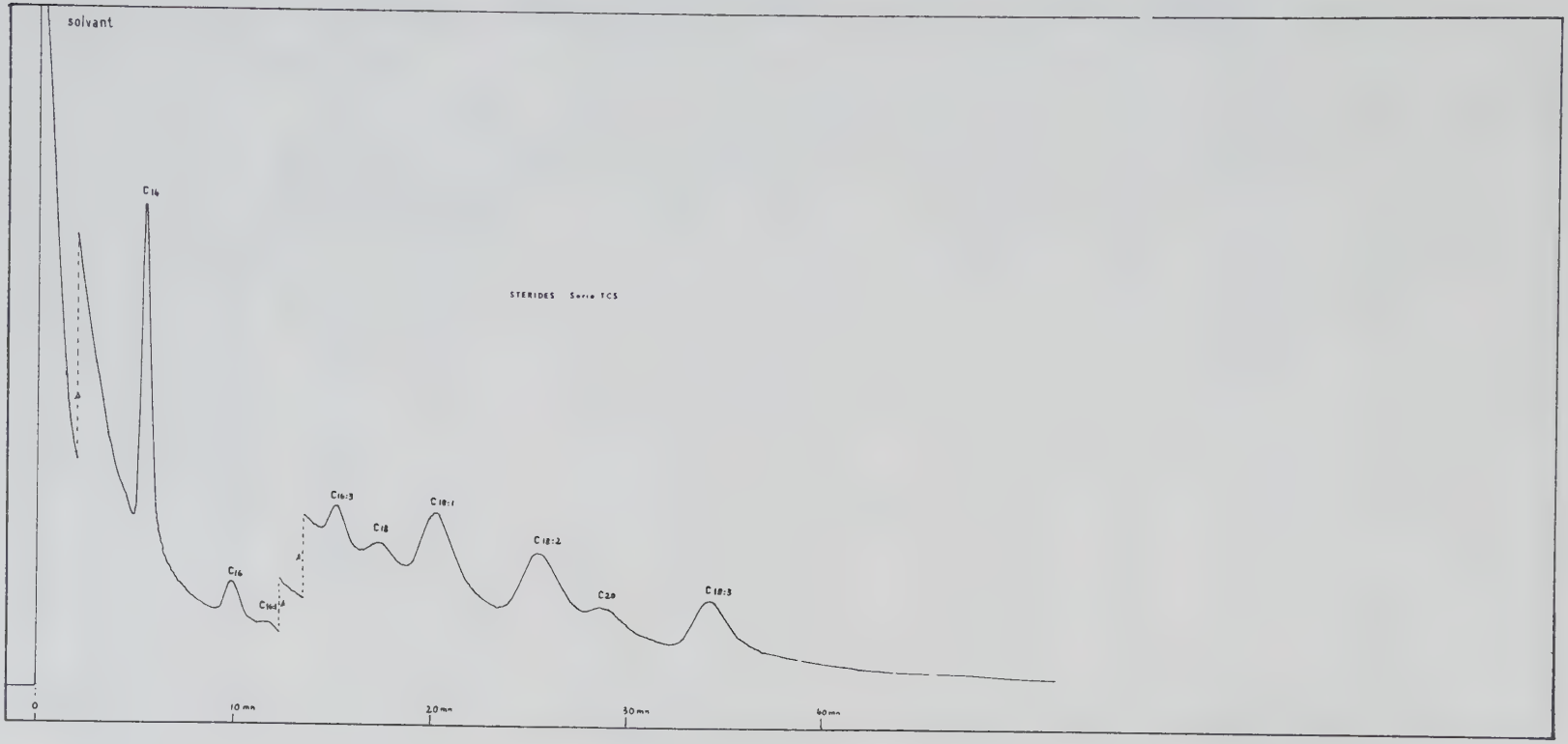

solvant
C14
STERIDES Serie TCS
C16
C16d
C16:3
C18
C18:1
C18:2
C20
C18:3
0
10 mn
20 mn
30 mn
40 mn

FIG 22

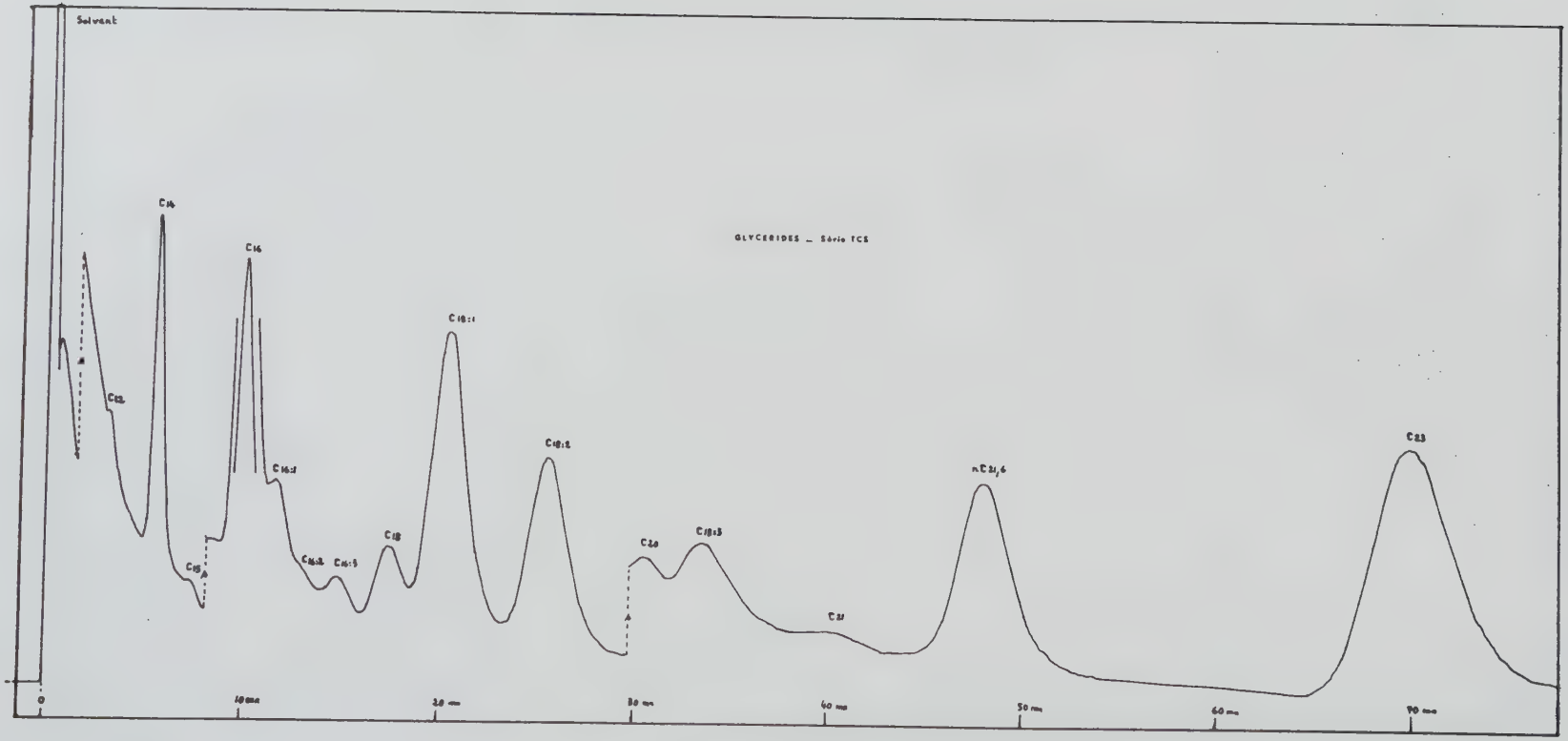

Solvant
GLYCERIDES — Série TCS
C14
C16
C18:1
C18:2
C20
C18:3
C21
nC24/6
C23
0
10 mn
20 mn
30 mn
40 mn
50 mn
60 mn
90 mn

FIG 23

Si un certain nombre de travaux sur les acides gras entrant dans la composition des fractions lipidiques sériques ont été réalisés chez l'homme, il ne semble pas à notre connaissance, qu'il en soit de même chez le lapin car nous n'avons trouvé pour cet animal que des publications concernant l'étude des acides gras entrant dans la composition de l'ensemble des différentes fractions lipidiques du sérum (20) (66).

L'ordre de présentation des acides gras dans le tableau VIII a été choisi en fonction de leur temps de rétention.

Pour les acides gras insaturés le chiffre qui fait suite à celui du nombre d'atomes de carbone exprime le nombre de liaisons éthyléniques. Ex $C_{16\ 1}$: acide palmitoleique possédant 16 atomes de carbones et une liaison éthylénique.

Le tableau VIII appelle les commentaires suivants :

a) le taux des acides gras saturés totaux (A.G.S. = 70 % environ) est nettement supérieur à celui des acides gras non saturés (A.G.I. = 30 % environ) pour les trois fractions : acides gras libres (A.G.L.), stérides et phospholipides. Au contraire, dans les glycérides, on trouve une proportion sensiblement égale d'A.G.I. et d'A.G.S. (50 % environ). Ces résultats sont assez fondamentalement différents de ceux observés chez l'homme par WAREMBOURG et coll. (50), BERTRAND (51) (tableau IX), SCHRADE (52) (53).

On peut souligner en particulier l'opposition presque symétrique observée dans les stérides pour les A.G.S. (19 % chez l'homme et 68,6 % chez le lapin).

b) l'étude détaillée des acides gras, outre cette différence quantitative, montre des différences de composition qualitative considérables pour les phospholipides et surtout pour les stérides. En effet :

- chez le lapin, les A.G.S. des phospholipides sont essentiellement constitués d'acide gras C_{14} accompagnés d'une proportion plus réduite des acides C_{16} et C_{18} ,
- chez l'homme, au contraire, on ne trouve pratiquement pas d'acide gras C_{14}, les homologues C_{16} et C_{18} étant prépondérants.

	A.G.L.	Stérides	Glycérides	Phospholipides
Acides saturés	49 %	19 %	38 %	47 %
Acides monoinsaturés	38 %	29 %	46 %	24 %
Acide linoléique	11 %	48 %	14 %	21 %
Acide arachidonique	2 %	4 %	2 %	8 %

Tableau IX : Pourcentages moyens des acides gras chez l'homme normal.

- dans les stérides, ces différences sont encore plus nettes puisqu'on trouve peu d'acide C_{16} et pratiquement plus de C_{18} la quasi-totalité des A.G.S étant constituée d'acide C_{14} .

Par ailleurs, en ce qui concerne les A.G.I. :

- dans les phospholipides, chez le lapin, les acides monoinsaturés $C_{16\ 1}$ et $C_{18\ 1}$ sont prépondérants alors que, chez l'homme, au contraire, les acides insaturés $C_{18\ 1}$ et $C_{18\ 2}$ prédominent.

Aucune fraction lipidique du lapin ne contient d'acide arachidonique $C_{20\ 4}$ qui est normalement présent chez l'homme. Par contre, dans les stérides et les glycérides du lapin, cet acide semble avoir été remplacé par l'acide linolénique $C_{18\ 3}$.

2°. *Etude comparative des différentes séries mises en expérimentation* :

Les tableaux X et XI correspondant respectivement aux phospholipides et aux glycérides, démontrent qu'il n'existe aucune différence valable sur les plans qualitatifs et quantitatifs dans la composition des acides gras de ces fractions pour les diverses séries traitées (CHO, SEC, CPS) par rapport aux séries témoins (SIL, TCS).

Par contre, la composition des acides gras libres et surtout celle des stérides, montrent des différences très nettes à la fin du traitement.

a/ acides gras libres (Tableau XII) :

- les séries SIL et TCS montrent peu de différences, que ce soit dans leurs compositions globales : rapport $\frac{AGS}{AGI}$ ou dans la composition détaillée de chacune des deux classes (A.G.S. et A.G.I.)
- pour les deux séries SIL et TCS, l'acide palmitique C_{16} prédomine dans les A.G.S. totaux.
- par contre, dans les séries ayant subi la diète cholestérolée seule (série CHO) ou jointe au traitement silicié (séries SEC et CPS), la modification fondamentale

Séries / Acides gras	Régime cholestérolé			Régime normal	
	C.H.O.	S.E.C.	C.P.S.	S.I.L.	T.C.S.
C_9	0,3	traces	traces	traces	traces
C_{10}	traces	0,6	0,4	1,0	0,2
C_{11}	1,2	traces	traces	traces	0,2
C_{12}	1,0	2,5	2,8	1,3	1,9
C_{14}	43,2	43,8	41,3	45,0	44,2
C_{15}	traces	traces	traces	traces	2,2
$C_{15\ 1}$	traces	0,4	traces	traces	0
C_{16}	18,6	18,3	18,2	18,0	17,6
$C_{16\ 1}$	7,3	7,4	10,6	8,0	11,8
$C_{16\ 2}$	0,5	0,4	traces	0,5	0,9
$C_{16\ 3}$	0,7	0,6	1,9	1,1	0,6
C_{18}	8,2	7,6	9,9	7,0	8,2
$C_{18\ 1}$	13,6	12,2	9,0	11,7	10,1
$C_{18\ 2}$	4,9	5,0	5,2	5,3	1,5
C_{20}	0,5	0,7	traces	0,8	0
$C_{18\ 3}$	traces	0,5	0	traces	0,6
$n\ C_{21,6}$	traces	traces	0,7	0,3	traces
AGS totaux	73,0	73,5	72,6	73,1	74,5
AGI totaux	27,0	26,5	27,4	26,9	25,5
$\frac{AGS}{AGI} =$	2,70	3,17	2,65	2,50	2,92

Tableau X : Acides gras (exprimés en %) entrant dans la composition des PHOSPHOLIPIDES dans les 5 séries animales.

Séries / Acides gras	Régime cholestérolé			Régime normal	
	C.H.O.	S.E.C.	C.P.S.	S.I.L.	T.C.S.
$C_9+C_{10}+C_{11}$	traces	traces	traces	traces	traces
C_{12}	1,6	3,4	0,9	2,0	1,8
C_{14}	8,2	6,1	7,7	6,6	8,5
C_{15}	0,8	0,8	0,9	0,5	0,7
C_{16}	26,9	29,7	28,5	28,9	28,1
$C_{16\ 1}$	2,3	3,4	3,2	2,7	2,4
$C_{16\ 2}$	traces	traces	traces	traces	traces
$C_{16\ 3}$	1,6	0,8	1,3	1,2	1,5
C_{18}	7,7	7,4	6,2	6,0	4,4
$C_{18\ 1}$	28,8	26,7	26,9	28,0	27,7
$C_{18\ 2}$	10,2	11,4	10,8	10,0	12,2
C_{20}	0,3	traces	0,6	0,5	traces
$C_{18\ 3}$	0,8	1,0	1,3	2,0	2,5
$n\ C_{21}$	traces	traces	traces	traces	traces
$n\ C_{21,6}$	3,6	3,0	3,9	3,2	2,1
$n\ C_{23}$	7,2	6,3	7,8	8,4	8,1
AGS totaux	52,7	53,7	52,6	52,9	51,6
AGI totaux	47,3	46,3	47,4	47,1	48,4
$\frac{AGS}{AGI} =$	1,10	1,15	1,11	1,12	1,06

Tableau XI : Acides gras (exprimés en %) entrant dans la composition des GLYCERIDES dans les 5 séries animales.

Séries / Acides gras	Régime cholestérolé			Régime normal	
	C.H.O.	S.E.C.	C.P.S.	S.I.L.	T.C.S.
$C_9+C_{10}+C_{11}$	traces	traces	traces	1,0	0,3
C_{12}	1,8	0,6	1,1	traces	1,2
C_{13}	traces	traces	traces	1,0	0
C_{14}	41,4	61,1	40,7	15,0	19,8
C_{15}	1,5	traces	0,8	2,0	3,1
C_{16}	17,6	10,0	20,6	37,2	29,3
$C_{16\ 1}$	0,8	traces	0,6	traces	2,1
$C_{16\ 2}$	0,3	traces	traces	traces	0,6
$C_{16\ 3}$	traces	traces	traces	traces	0,1
C_{18}	15,6	11,3	14,2	14,9	16,0
$C_{18\ 1}$	19,3	15,2	19,3	23,4	21,9
$C_{18\ 2}$	1,7	1,8	2,7	5,0	4,9
$C_{18\ 3}$	traces	traces	traces	0,5	0,7
AGS totaux	77,9	83,0	77,4	71,1	69,7
AGI totaux	22,1	17,0	22,6	28,9	30,3
$\frac{AGS}{AGI} =$	3,53	4,88	3,42	2,81	2,30

Tableau XII : Acides gras (exprimés en %) entrant dans la composition des ACIDES GRAS LIBRES dans les 5 séries animales.

observée est une inversion des proportions relatives C_{14} / C_{16} , l'acide myristique C_{14} devenant nettement prépondérant dans les trois séries. *C'est dans la série SEC que cet effet est le plus manifeste.*

b/ stérides (Tableau XIII) :

- En premier lieu, le rapport $\frac{A.G.S.}{A.G.I.}$ est considérablement diminué chez les animaux soumis à la diète cholestérolée sans traitement silicié : 0,60 pour la série CHO et 2,18 pour la série TCS. Cette diminution est encore assez nette dans la série CPS alors que le rapport est sensiblement normal dans la série SIL et intermédiaire dans la série SEC, par rapport à la série témoin TCS. Il semble donc que le traitement silicié, surtout lorsqu'il est administré à titre préventif (série SEC), puisse pallier partiellement les désordres métaboliques responsables des modifications*quantitatives* observées dans la série CHO. Cet effet se traduit *qualitativement* par une augmentation considérable de l'acide palmitique C_{16} au détriment de l'acide myristique C_{14} , la somme de ces deux acides demeurant sensiblement voisine dans les séries SEC, SIL et TCS (56 % environ). Dans la série CHO, la chute globale des A.G.S. se traduit également par une prépondérance de l'acide palmitique C_{16} par rapport à l'acide myristique C_{14} . Il faut également noter, dans cette série, une proportion non négligeable d'acide laurique C_{12}, qui n'existe pratiquement pas dans les séries témoins. Chez les animaux traités au cholestérol et lorsque le dérivé silicié G.S. est utilisé à titre préventif (série SEC), *l'effet d'inversion* C_{14}/ C_{16} , observé dans la série CHO, est pratiquement inhibé. Au contraire, lorsque le dérivé est administré à titre curatif (série CPS), si l'on observe une augmentation globale des A.G.S. totaux par rapport à la série CHO, la proportion relative des divers acides gras saturés, dans la séquence C_{12} - C_{14} - C_{16} - C_{18} est tout à fait comparable à celle observée dans la série CHO.

- Dans la série SIL, et encore plus nettement dans les séries soumises à la diète cholestérolée (CHO, SEC, CPS) alors que les acides gras triinsaturés sont considérablement diminués par rapport à ceux de la série TCS, l'acide linoléique $C_{18\ 2}$ au contraire est nettement augmenté.

Séries / Acides gras	Régime cholestérolé			Régime normal	
	C.H.O.	S.E.C.	C.P.S.	S.I.L.	T.C.S.
$C_9+C_{10}+C_{11}$	traces	traces	traces	traces	traces
C_{12}	3,2	traces	4,0	0,4	traces
C_{14}	14,2	44,7	19,9	34,1	53,7
C_{15}	0,9	1,3	2,0	0,4	traces
C_{16}	17,4	11,8	22,2	22,2	7,6
$C_{16\ 1}$	7,4	2,8	5,8	3,2	1,7
$C_{16\ 2}$	traces	traces	traces	traces	traces
$C_{16\ 3}$	0,7	1,0	0,7	1,7	2,4
C_{18}	2,1	1,1	4,8	3,3	1,7
$C_{18\ 1}$	29,3	9,5	17,1	12,6	8,9
$C_{18\ 2}$	23,0	26,5	22,5	16,1	11,7
C_{20}	traces	traces	traces	3,9	5,6
$C_{18\ 3}$	1,8	1,3	1,0	2,1	6,7
AGS totaux	37,8	58,9	52,9	64,3	68,6
AGI totaux	62,2	41,1	47,1	35,7	31,4
$\frac{AGS}{AGI}$	0,60	1,43	1,12	1,80	2,18

Tableau XIII : Acides gras (exprimés en %) entrant dans la composition des STERIDES dans les 5 séries animales.

- Dans toutes les séries, la somme des acides gras polyinsaturés est assez proche de 23 % en moyenne.

- Par contre, l'augmentation globale des acides gras insaturés A.G.I. et par là même l'inversion du rapport $\frac{\text{A.G.S.}}{\text{A.G.I.}}$ sont dues aux acides monoinsaturés ($C_{16\ 1}$ + $C_{18\ 1}$) ainsi qu'il ressort du rapport $\frac{\text{A.G.S.}}{\text{Acides gras monoinsaturés.}}$ (tableau XIV).

C. CONCLUSION.

Cette expérimentation nous permet de dégager l'influence du dérivé silicié G.S. sur le métabolisme lipidique :

- il ne modifie pratiquement pas le taux sérique des paramètres classiques de la lipémie,

- il n'apporte, par ailleurs, aucune modification tant qualitative que quantitative dans la composition en acides gras des phospholipides et des glycérides,

- il modifie peu la composition qualitative de la fraction acides-gras-libres,

- par contre, le traitement silicié seul (SIL) est caractérisé dans la composition en acides gras des stérides par :

  - un dédoublement de l'acide C_{14} en acides (C_{14} + C_{16}) dans les acides gras saturés,

  - une diminution de l'acide $C_{18\ 3}$ et une augmentation corrélative des acides $C_{16\ 1}$, $C_{18\ 1}$ et $C_{18\ 2}$.

- la diète cholestérolée, de son côté, se traduit par :

  - une diminution globale des acides gras saturés associée à une augmentation globale des acides gras insaturés,

  - une inversion, pour les acides gras saturés, du taux de l'acide C_{14} par rapport à l'acide C_{16} qui devient prépondérant.

	C H O	S E C	C P S	S I L	T C S
Acides saturés	37,8 %	58,9 %	52,9 %	64,3 %	68,6 %
Acides monoinsaturés ($C_{16\ 1} + C_{18\ 1}$)	36,7 %	12,3 %	23,9 %	15,8 %	10,6 %
Acide linoléique	23 %	26,5 %	22,5 %	16,1 %	11,7 %
Acides tri-insaturés ($C_{16\ 3} + C_{18\ 3}$)	2,5 %	2,3 %	1,7 %	3,8 %	9,1 %
$\frac{\text{Acides saturés}}{\text{Acides monoinsaturés}}$	1,03	4,78	2,21	4,07	6,47

Tableau XIV : Répartition des acides gras entrant dans la composition des STERIDES dans les 5 séries animales.

- une augmentation considérable pour les acides gras insaturés des acides monoinsaturés ($C_{16\ 1} + C_{18\ 1}$),

- l'effet préventif du dérivé glycérosilicié G.S. vis-à-vis des modifications dues à la diète cholestérolée est manifeste. En effet, la série SEC se rapproche, dans sa composition en ccides gras au niveau des stérides, de la série témoin TCS. Le traitement silicié a prévenu en particulier, l'inversion C_{14} / C_{16} et l'augmentation des acides gras monoinsaturés,

- l'effet curatif semble, au contraire, défaillant en ce qui concerne la composition en acides gras de la série CPS qui est assez voisine de celle observée pour la série CHO. Il se manifeste toutefois dans une certaine mesure vis-à-vis de l'augmentation des acides gras monoinsaturés.

II. ETUDE ENZYMOLOGIQUE.

A. AU NIVEAU DU SERUM.

Dans le tableau XV sont présentés les résultats exprimés en valeur absolue pour les séries CHO, SEC, SIL et TCS au départ et au cours de l'expérimentation. La série CPS n'y est pas représentée car, à ce stade, elle constitue un lot identique au lot CHO.

Nous sommes conduit à deux remarques :

- en premier lieu, l'étude statistique des valeurs mesurées pour les paramètres enzymatiques, dans les séries CHO, SEC, SIL par rapport à celles obtenues dans la série témoin TCS, n'a révélé aucune différence statistiquement significative lors du premier prélèvement.

- d'autre part, comme l'ont montré CROCKETT et coll. (25) on observe des variations "spontanées et homogènes" assez considérables dans le lot témoin, représentant parfois une évolution naturelle en fonction de l'âge, donc d'ordre purement physiologique. Elles sont aussi le fait de variations saisonnières. Il en résulte qu'une interprétation des résultats, exprimés en valeur absolue, est particulièrement difficile. C'est la raison pour laquelle pour

	Séries	1° prélèvement		2° prélèvement	
		Moyenne	Ecart standard	Moyenne	Ecart standard
L.D.H.	CHO	463	132	553	164
	SEC	466	170	444	113
	SIL	446	77	328	104
	TCS	344	76	274	75
β Glyc.	CHO	1740	1052	1349	697
	SEC	1631	481	1425	494
	SIL	1617	555	1941	472
	TCS	1435	367	1725	525
N-Acétyl β Glyc.	CHO	8,81	2,43	4,56	0,89
	SEC	8,63	2,44	5,11	1,31
	SIL	9,14	3,05	7,85	3,47
	TCS	7,65	2,03	6,75	3,15
I.C.D.H.	CHO	144,4	26,5	114,5	21,4
	SEC	155,9	21,3	116,1	26,7
	SIL	169	18,8	124,4	25,1
	TCS	170,5	30,7	120,8	13
G6 P.D.H.	CHO	11,02	1,50	11,00	2,13
	SEC	13,74	4,75	10,10	2,52
	SIL	14,90	2,97	9,34	3,08
	TCS	12,56	2,99	7,78	0,86
6-P.Gl.D.H.	CHO	7,22	1,71	6,01	2,29
	SEC	9,46	2,21	4,44	1,35
	SIL	7,97	1,35	4	0,80
	TCS	8,33	2,14	4,08	0,56

Tableau XV : Activités enzymatiques sériques (exprimées en valeur absolue), observées dans les séries CHO SEC SIL et TCS lors des 1° et 2° prélèvements.

tenir compte de ces fluctuations sous la dépendance de facteurs physiologiques ou autres, mais sans aucun doute communes à tous les lots d'animaux mis en jeu dans notre expérimentation et toujours étudiés parallèlement, nous avons, dans le tableau XVI, uniformisé le mode d'expression des résultats en considérant la valeur relative moyenne de chaque paramètre biologique pour le groupe physiologique considéré par rapport à la valeur moyenne trouvée pour le lot témoin correspondant. Ce mode d'expression, en valeur relative, nous paraît plus fidèle que l'expression en valeur absolue (25) dans la mesure où il tient compte des variations signalées antérieurement :"il exprime plus réellement les différences biologiques entre deux lots d'animaux étudiés comparativement et facilite de ce fait l'interprétation des résultats".

L'examen du tableau XVI permet de dégager les constatations suivantes :

1°) Les deux enzymes du cycle des pentoses G_6.P.D.H. et 6-P.Gl.D.H. sont statistiquement augmentés dans la série CHO. L'augmentation est relativement plus faible pour la G_6 P.D.H. seulement dans la série SEC.

L'augmentation de ces activités enzymatiques qui interviennent de façon prépondérante dans la formation du N.A.D.P.H., constitue peut-être un moyen de favoriser la biogénèse des acides gras qui est directement sous la dépendance de ce cofacteur. Les acides ainsi formés constitueraient à leur tour un moyen de bloquage du cholestérol sous la forme de stérides. Il est d'ailleurs intéressant de rapprocher cette hypothèse des résultats constatés antérieurement, à propos des paramètres lipidiques, à savoir que, parmi les diverses fractions lipidiques, seules les compositions en acides gras des fractions acides gras libres et stérides sont modifiées lors de l'administration du cholestérol. Il y a lieu également de souligner que l'adjonction du traitement silicié au régime cholestérolé évite l'augmentation de la 6-P.Gl.D.H. et diminue celle de la G_6 P.D.H. comme elle évite partiellement les modifications de la composition en acides gras des stérides, constatées chez les animaux soumis à la seule diète cholestérolée (série CHO).

	Séries	Moyennes	n.D.L.	t	Sens de la variation	p
G6 P.D.H.	C H O	142	16	3,504	↗	○○○
	S E C	130	17	2,106	↗	○
	S I L	120	11	1,190	↗	
	T C S	100				
6-P.Gl.D.H.	C H O	147	16	1,996	↗	○
	S E C	108	17	0,628		
	S I L	98	11	0,208		
	T C S	100				
L.D.H.	C H O	202	17	3,920	↗	○○○○
	S E C	162	18	2,256	↗	○
	S I L	119	11	1,071		
	T C S	100				
I.C.D.H.	C H O	95	16	0,652		
	S E C	96	17	0,402		
	S I L	103	11	0,315		
	T C S	100				
β Glyc.	C H O	78	17	1,170	↘	
	S E C	83	18	0,782	↘	
	S I L	112	11	0,810	↗	
	T C S	100				
N-Acétyl β Glyc.	C H O	67	16	2,290	↘	○
	S E C	76	18	1,678	↘	
	S I L	116	11	0,592	↗	
	T C S	100				

Tableau XVI : Comparaisons entre les activités enzymatiques (exprimées en valeurs relatives), observées lors du 2° prélèvement sérique, entre les séries CHO SEC SIL et la série TCS.

2°) La L.D.H. qui intervient dans le carrefour glycolytique, est significativement augmentée dans la série SEC. L'interprétation apparaît délicate en l'absence d'un zymogramme qui préciserait si l'augmentation favorise la glycolyse ou la voie respiratoire du cycle de Krebs. La stabilité de l'I.C.D.H. quelque soit le traitement, serait plutôt en faveur de la première hypothèse.

3°) Les deux hydrolases, β-glycuronidase et N-acétyl-β-glycosaminidase, impliquées dans le catabolisme des chondroitines-sulfate-protéines du tissu conjonctif, sont significativement diminuées dans la série CHO et moins nettement dans la série SEC.

B. AU NIVEAU DE L'AORTE.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XVII :

- En comparant la série SIL au lot témoin TCS, les seules différences imputables au traitement silicié sont :

- une augmentation de l'I.C.D.H. (33 %),
- une augmentation de la 6-P.G1 D.H. (13 %),
- une augmentation de la β-glycuronidase (20 %),
- une diminution de la C.P.K. relativement plus faible,
- enfin, une augmentation des protéines extractibles.

- Par ailleurs, la comparaison entre les animaux soumis à la seule diète cholestérolée (série CHO) et le lot témoin TCS permet de mettre en évidence les modifications suivantes :

- une légère diminution de l'I.C.D.H. et de la G_6 P.D.H. (10 % environ),
- une augmentation de la β-glycuronidase et de la P.M.E.I. (30 % environ),
- une diminution très significative de la P.M.E. II ($p<0,02$) et de la C.P.K. ($p< 0,01$).
- une augmentation également très significative des protéines extractibles ($p< 0,01$),

	T C S	S I L	C P S	S E C	C H O
I C D H	152 42	201 76	169 97	162 65	137 48
M D H	255 53	273 42	262 89	246 50	244 57
G6 P D H	78,1 14,8	79,7 15,1	85 18,4	79,7 32,7	68,1 24
6-P. Gl. D. H	23,3 3,8	26,4 4,1	27,2 4,1	26,9 8,1	22,9 7,2
β Glyc.	7,33 1,04	8,82 1,61	10,73 5,05	11,88 7,77	9,74 3,79
N-Acétyl β Glyc.	15,58 2,68	16,85 3,09	15,93 3,33	18,22 8,26	15,57 6,69
P M E I	3,89 1,43	3,67 1,50	3,81 1,78	3,67 0,93	4,90 2,31
P M E II	45,5 8,9	48,9 6,3	48,4 5,7	47,3 15,8	31,1 10,2
C P K	1717 284	1517 324	1386 232	1520 358	1282 196
L D H	2098 376	2046 432	1952 387	2201 685	1862 358
L D H I	23,3 7,7	20,1 4,4	20,4 5,3	18,5 6,1	18 6,8
L D H II	37,8 5,2	42,5 3,3	36,3 4,4	36 3,9	36,3 9,5
L D H III	25,1 4,5	30,5 3,7	33,2 4,5	33,5 6,4	31,6 5,4
L D H IV	2,3 1,5	3,4 2,8	6,2 4,2	5,4 4,8	6,2 6,1
L D H V	11,3 13,6	3,2 2,1	3,7 2,4	4,4 4	7,8 8,3
Protides	535 46	627 142	674 114	656 135	847 223

Tableau XVII : Activités enzymatiques (exprimées en valeur absolue) observées, au niveau de l'aorte, dans les 5 séries animales.

moyenne / écart

- Enfin, la comparaison entre les séries CPS et SEC et la série témoin TCS met en évidence :

- une augmentation de l'I.C.D.H. (10 %),
- une augmentation de la 6-P.Gl D.H. (16 %)
- une augmentation de la β-glycuronidase (55 %),
- une diminution significative de la C.P.K. (15 %),
- une augmentation des protéines extractibles (23 %).

L'ensemble de ces résultats est schématisé dans le tableau XVIII.

De l'étude du potentiel enzymatique de la paroi aortique, on peut tirer les conclusions suivantes :

- en premier lieu, il semble que le traitement silicié, appliqué à titre préventif et curatif, empêche des diminutions des activités I.C.D.H. et G_6.P.D.H. provoquées par une diète cholestérolée,

- l'augmentation de la 6-P.Gl.D.H. est assez caractéristique du dérivé silicié car on la retrouve dans les trois séries d'animaux auxquels il a été administré,

- l'augmentation de la β-glycuronidase semble être le fruit d'un effet synergique du cholestérol et du dérivé silicié qui tous deux, individuellement, augmentent cette activité, mais de façon moins nette qu'en utilisation simultanée ou successive,

- le dérivé silicié évite également, d'une part l'augmentation de la phosphatase alcaline P.M.E.I., d'autre part la diminution significative de la phosphatase acide P.M.E.II. Le maintien de ces activités enzymatiques est aussi net dans la série SEC que dans la série CPS,

- dans les séries SEC et CPS la diminution de la C.P.K. semble tout à fait normale puisque le dérivé silicié provoque, lorsqu'il est employé seul dans la série SIL, une modification identique. Par contre, cette activité est très significativement diminuée dans la série CHO,

- enfin, administré à titre curatif, le dérivé silicié se montre moins efficace qu'à titre préventif.

---=---

	VARIATIONS DE			
	SIL/TCS	CHO/TCS	SEC/TCS	CPS/TCS
I.C.D.H.	↗ 33 % (°)	↘ 10 %	↗ 11 %	↗ 11 %
G 6 P.D.H.		↘ 10 %		
6-P.Gl.D.H.	↗ 13 %		↗ 15 %	↗ 17 %
β Glyc.	↗ 20 %	↗ 30 %	↗ 62 % (°)	↗ 46 %
P.M.E. I		↗ 30 %		
P.M.E. II		↘ 30 % (°°)		
C.P.K.	↘ 12 %	↘ 26 % (°°°)	↘ 12 %	↘ 19 %
Protéines	↗ 17 %	↗ 58 % (°°°)	↗ 23 %	↗ 25 %

Tableau XVIII : Comparaison, au niveau de l'aorte, entre les activités enzymatiques observées dans les séries SIL CHO SEC et CPS à celles de la série TCS.

En conclusion, le dérivé que nous avons étudié s'est montré capable, surtout lorsqu'il est *administré à titre préventif*, de corriger la plupart des désordres métaboliques observés aussi bien au niveau humoral qu'au niveau pariétal.

Il mérite des recherches complémentaires dans le domaine de l'athérosclérose expérimentale.

---=---

Chapitre III

RESULTATS ET DISCUSSION DE L'ETUDE HISTOLOGIQUE

I. RESULTATS.

A. SERIE CHO :

(Tableau XIX)

1) Sous-série à lésions macroscopiques de surface inférieures à 20 % :

Elle comprend 9 animaux sur 13 survivants au moment du sacrifice :

a) Trois d'entre eux sont indemnes : CHO_{11}, CHO_{12} et CHO_{59}.

b) Les six autres présentent des altérations histologiques minimes pour la plupart.

En ce qui concerne ces animaux nous avons observé :

- lapin CHO_4 : production conjonctive très localisée dissociant la limitante élastique interne (symbole L.E.I.). La coloration au noir Soudan n'a pas montré de dépôts lipidiques,
- lapin CHO_5 : quelques rares dépôts lipidiques bien circonscrits dans l'intima. La L.E.I. est respectée,
- lapin CHO_9 : nombreux dépôts lipidiques en larges plaques. Par endroit la L.EI. est rompue et l'infiltration lipidique fuse dans la média,

Lapins	CHO_1	CHO_3	CHO_4	CHO_5	CHO_7	CHO_8	CHO_9	CHO_{10}	CHO_{11}	CHO_{12}	CHO_{13}	CHO_{14}	CHO_{59}	CHO_2	CHO_6	
Lésions	60	20	<5	15	35	40	5	3	0	0	<5	0	10	†	†	

Tableau XIX : Pourcentages de lésions macroscopiques sur la surface interne de l'aorte dans la série C H O.

Lapins	SEC_{15}	SEC_{17}	SEC_{18}	SEC_{19}	SEC_{20}	SEC_{21}	SEC_{22}	SEC_{23}	SEC_{24}	SEC_{25}	SEC_{26}	SEC_{27}	SEC_{28}	SEC_{29}
Lésions	2	2	30	20	3	5	15	3	35	0	60	5	5	5

Tableau XX : Pourcentages de lésions macroscopiques sur la surface interne de l'aorte dans la série S E C.

Lapins	CPS_{30}	CPS_{32}	CPS_{33}	CPS_{34}	CPS_{35}	CPS_{36}	CPS_{37}	CPS_{38}	CPS_{39}	CPS_{40}	CPS_{41}	CPS_{42}	CPS_{43}	CPS_{44}
Lésions	15	2	20	2	40	55	15	0	5	25	<5	10	3	55

Tableau XXI : Pourcentages de lésions macroscopiques sur la surface interne de l'aorte dans la série C P S.

- lapins CHO_{10} et CHO_{13} : épaississement localisé de l'intima. Existence d'une production conjonctive répartie de part et d'autre de la L.E.I. qui est fragmentée par endroits. La coloration au noir Soudan n'a pas montré de dépôts lipidiques. Cet aspect est à rapprocher de celui observé chez le lapin CHO_4.

- lapin CHO_{14} : épaississement localisé de l'intima, par réaction conjonctive, comportant de nombreux noyaux et de nombreuses fibres collagènes. La coloration au noir Soudan n'a pas montré de dépôts lipidiques.

2) *Sous-série à lésions macroscopiques de surface supérieurs ou égales à 20 % :*

Elle comprend quatre lapins : CHO_1 - CHO_3 - CHO_7 - CHO_8 qui présentent tous des altérations histologiques.

- lapin CHO_1 : des examens microscopiques ont été pratiqués d'une part au niveau des zones macroscopiquement lésées, d'autre part, au niveau des zones macroscopiquement normales et apparemment indemnes de dépôts lipidiques.

  Dans les zones atteintes, on retrouve d'importants dépôts lipidiques dans l'intima qui apparaît très épaissi. Les lipides infiltrent les parties superficielles de la média et se prolongent sur un mode discret jusqu'à la partie moyenne de cette tunique.

  Au niveau des zones apparemment saines : La coloration au noir Soudan met en évidence des dépôts lipidiques. Si ceux-ci sont moins étendus, leur épaisseur reste importante et on retrouve aussi des dépôts lipidiques dans la média,

- lapins CHO_3 , CHO_7 , CHO_8 : ces animaux présentent sensiblement les mêmes lésions histologiques dont nous ferons une description d'ensemble . Dans les trois cas on note la présence de dépôts lipidiques intimaux en plaques discontinues plus ou moins épaisses débordant parfois la LEI. Celle-ci est rompue par endroit au-dessous des dépôts lipidiques, l'infiltration lipidique fusant alors vers la média. Ailleurs la L.E.I. est dédoublée ou épaissie comme le montre fort bien les colorations par l'H.E.S. ou le Weigert.

Il est à noter que nous n'avons pas observé de fibrose au contact du foyer lipidique.

Ces lésions qui sont parmi les plus importantes constatées sont donc encore des stades précoces de l'imprégnation lipidique. Elles ne présentent pas le degré d'organisation de la plaque d'athérome typique.

B. SERIE S E C : (tableau XX).

1) Sous-série à lésions macroscopiques de surface inférieures à 20 % :

Elle comprend 10 animaux sur 14 survivants au moment du sacrifice. Les dix animaux sont indemnes de toutes lésions histologiques: SEC_{15}, SEC_{17}, SEC_{20}, SEC_{21}, SEC_{22}, SEC_{23}, SEC_{25}, SEC_{27}, SEC_{28}, SEC_{29}.

2) Sous-série à lésions macroscopiques de surface supérieures ou égales à 20 %.

Elle comprend 4 animaux :

- lapin SEC_{18} : la coloration au noir Soudan montre quelques dépôts lipidiques linéaires intimaux bien circonscrits en épaisseur. Ces dépôts ne sont présents qu'en regard des zones macroscopiquement lésées. Au niveau des zones macroscopiquement saines, l'image histologique est normale.
- lapin SEC_{19} : rares petits dépôts soudanophiles sous-endothéliaux,
- lapin SEC_{24}: aucune altération histologique .
- lapin SEC_{26} : cet animal présente des lésions macroscopiques couvrant 60 % de la surface. Histologiquement, on constate un épaississement de l'intima avec l'importants dépôts lipidique. *Dans l'ensemble la L.E.I. est respectée.* On peut cependant observer, en un endroit de la coupe, un dédoublement de la lame élastique sous laquelle se trouvent une ou deux rangées d'histiocytes lipophages.

Remarque : Bien que les lésions macroscopiques soient supérieures à celles des lapins CHO_7 et CHO_8, les atteintes histologiques sont de même importance ou peut-être

moindres, en particulier en ce qui concerne la L.E.I.

C. SERIE C P S (tableau XXI).

1) Sous-série à lésions macroscopiques de surface inférieures à 20 %.

Elle comprend 9 animaux sur 14 survivants au moment du sacrifice.

a) 8 animaux sont indemnes.

b) Seul le lapin CPS_{30} présente une lame continue de lipides au niveau de l'intima. Ce dépôt reste partout très mince et discret. Les autres colorations pratiquées n'ont montré aucune lésion même minime.

2) Sous-série à lésions macroscopiques de surface supérieures ou égales à 20 % :

Elle comprend 5 lapins :

- lapin CPS_{33} : rares coussinets intimaux contenant des dépôts soudanophiles qui restent très superficiels ; mais la plus grande partie des préparations examinées ne montraient pas de lésions,
- lapin CPS_{35} : la coloration au noir Soudan permet d'observer de rares dépôts lipidiques superficiels très minces. Sur les autres préparations, on ne note aucune lésion ,
- lapin CPS_{36} : présence de dépôts lipidiques, dans l'intima épaissi de manière discontinue, sous forme de coussinets. Les dépôts ne franchissent pas la L.E.I. qui est très contournée mais non dédoublée. Au dessous de la L.E.I. les fibres élastiques de la média sont épaissies.

Intérêt : non franchissement de la L.E.I. et épaississement des fibres élastiques.

- lapin CPS_{44} : lésions intimales étendues mais de faible épaisseur et sans réactions cellulaires (il y a peu d'éléments nucléés). En outre les dépôts soudanophiles sont très discrets. Il s'agit sans doute d'une lésion très précoce dite "dégénérescence myxoïde" ou "oedème alipidique".

- lapin CPS_{40} : image normale.

II. DISCUSSION.

La discussion de l'étude histologique portera sur les lots CHO, CPS et SEC. En effet, les coupes pratiquées chez les animaux des séries SIL et TCS, sont en tout point comparables. Le dérivé silicié, en l'absence de régime athérogène, n'amène donc aucune modification des différentes tuniques de la paroi artérielle.

A. CHEZ LES ANIMAUX PRESENTANT DES LESIONS MACROSCOPIQUES DE SURFACE INFERIEURES A 20 %, on peut effectuer les remarques suivantes :

- *Dans la série CHO : 6 lapins sur 9* présentent des lésions histologiques. Dans l'ensemble celles-ci sont peu marquées et consistent essentiellement en une *réaction conjonctive* siégeant dans l'intima ou de part et d'autre de la L.E.I. Dans un cas seulement (lapin CHO_9) on a pu mettre en évidence de nombreux dépôts lipidiques et une altération de la L.E.I.
- *Dans la série SEC :* aucun lapin ne présente de lésions. Leurs artères sont comparables à celles des animaux témoins (séries SIL et TCS).
- *Dans la série CPS : 1 lapin sur 9* (CPS_{30}) présente un mince dépôt lipidique intimal. Tous les autres sont comparables aux témoins sains.

Nous pensons pouvoir conclure qu'il existe une différence significative entre les lots SEC et CPS d'une part et le lot CHO d'autre part. En effet, on peut considérer que les lapins soumis à un traitement silicié préventif ou curatif ne présentent pas de lésions alors qu'on peut retrouver, chez les 2/3 des animaux de la série CHO, une atteinte discrète de la paroi artérielle.

B. CHEZ LES ANIMAUX PRESENTANT DES LESIONS MACROSCOPIQUES DE SURFACE SUPERIEURES OU EGALES A 20 %

Tous les animaux de la *série CHO* présentent des lésions. *Dans tous les cas,* les altérations sont les plus importantes constatées : important dépôt lipidique intimal, effractions et dédoublements de la L.E.I., infiltrations lipidiques dans la zone superficielle de la média.

- Dans la série SEC :

- un animal est indemne,
- deux animaux présentent des lésions minimes,
- un seul animal SEC_{26} est plus atteint. Cependant, bien que ses lésions macroscopiques (60 %) soient supérieures à celles des lapins CHO_7 et CHO_8 (35 % et 40 %) les altérations histologiques sont moindres et en particuliers au niveau de la LEI.

- Dans la série CPS :

- un animal est indemne,
- trois animaux présentent des lésions débutantes,
- un animal (CPS_{36}) montre d'importants dépôts lipidiques dans l'intima. L'intérêt de cette coupe réside dans le non franchissement de la L.E.I. et dans l'épaississement des fibres élastiques. On pourrait envisager, sur cette image, une réaction de défense empêchant la diffusion des lipides intimaux qui semblent bien circonscrits.

Alors que les animaux des séries CHO présentent tous des lésions importantes, on observe régulièrement chez les animaux des séries SEC et CPS des lésions moins évoluées. Même dans les deux cas où il existe d'importants dépôts lipidiques (SEC_{26} et CPS_{36}) la limitante élastique interne est peu modidiée et ne montre jamais les altérations constatées chez les lapins de la série CHO.

EN CONCLUSION :

Le protocole expérimental (1 g de cholestérol par jour pendant 8 semaines) n'a permis d'aboutir qu'à des altérations histologiques de faible importance. Les différences les plus significatives apparaissent lorsqu'on compare

les séries en fonction de l'étendue des atteintes macroscopiques. A dépôt lipidique d'étendue identique, les lésions microscopiques sont constamment inférieures chez les lapins des séries SEC et CPS. Lorsque le dépôt lipidique est inférieur à 20 %, les lapins ayant reçu un traitement silicié n'ont présenté aucune lésion.

Chez les lapins dont le dépôt lipidique est supérieur ou égal à 20 %, le traitement silicié semble freiner le développement des lésions histologiques puisque la plupart de ces animaux présentent des lésions comparables à celles observées chez les lapins du lot CHO ayant des dépôts lipidiques inférieurs à 20 %.

Ces faits sont en accord avec ceux décrits par LOEPER (57) : le silicium agirait essentiellement d'une part en freinant l'infiltration lipidique au niveau de l'intima et surtout de la média, d'autre part en renforçant la résistance des fibres élastiques de la média et de la L.E.I. Ce dernier rôle nous paraît le plus important.

---=---

PLANCHES I et II

LEGENDES DE LA PLANCHE I

Haut gauche : Lapin SIL_{45} - Artère témoin normale (HES × 25).

Haut droite : Lapin SIL_{46} - Artère témoin normale (noir Soudan-Safranine × 25).

Centre gauche: Lapin CHO_4 - Production conjonctive intimale dissociant la L.E.I. (HES × 25).

Centre droite: Lapin CPS_{44} - Aspect de dégénérescence myxoïde au niveau de l'intima (HES × 25).

Bas gauche : Lapin CPS_{36} - Net épaississement de l'intima. La L.E.I. est très contournée mais non dissociée. Epaississement des fibres musculaires sous-jacentes (Weigert × 25).

Bas droite : Lapin CPS_{36} - Coussinets intimaux. Les lésions restent très superficielles (HES × 10).

LEGENDES DE LA PLANCHE II

Haut gauche : Lapin CHO_1 - Importants dépôts lipidiques dans l'intima et dans les couches superficielles de la média (noir Soudan-Safranine × 10).

Haut droite : Lapin CHO_7 - Epaississement de l'intima infiltré d'histiocytes lipophages. Dédoublement de la L.E.I. (HES × 10).

Centre gauche: Lapin SEC_{18} - Mince dépôt lipidique linéaire superficiel (noir Soudan-Safranine × 10).

Centre droite: Lapin SEC_{26} - Lésions localisées au niveau de l'intima. La L.E.I. présente des altérations minimes (Weigert × 25).

Bas gauche : Lapin CHO_8 - Importantes infiltrations d'histiocytes chargés de lipides (ici optiquement vides) au niveau de l'intima. La L.E.I. est dissociée par une prolifération cellulaire plus dense (HES × 25).

Bas droite : Lapin CHO_8 - Les altérations de la L.E.I. sont bien mises en évidence par la coloration de Weigert (× 25).

CONCLUSION GENERALE

Au cours de ce travail, nous avons procédé à l'étude chimique de quelques dérivés organosiliciés en vue de leurs utilisations thérapeutiques éventuelles. Nos recherches ont porté sur deux composés déjà connus et sur des molécules non décrites jusqu'à ce jour.

I. Nous avons mis au point une nouvelle méthode de préparation du : 1,1-Diméthyl-4-hydroxy-1-sila-2,6-dioxacyclohexane, que nous avons appelé "composé G.S.", par action du diméthyldichlorosilane sur le glycérol. Nous avons discuté sa structure qui nous paraît différente de celle qui avait été proposée.

Nous avons montré que sa solubilisation dans l'eau s'accompagne d'une hydrolyse. Les solutions aqueuses ne contiennent pas le composé G.S. lui-même mais les produits d'hydrolyse totale ou partielle.

II. Nous avons fait réagir l'hexaméthylcyclotrisilazane sur différents triols et tétrols. Nous avons ainsi synthétisé cinq composés :

- 1,1-Diméthyl-3-(hydroxybutyl)-1-sila-2,5-dioxacyclopentane,
- 1,1-Diméthyl-2,8-dioxa-5-(hydroxyéthyl)-1-sila-5-azacycloctane,
- 1,1-Diméthyl-4-amino-4-(hydroxyméthyl)-1-sila-2,6-dioxacyclohexane,
- 4,4'-bis(1,1-diméthyl-1-sila-2,5-dioxacyclopentane
- 3,3,9,9-Tétraméthyl-3,9-disila-2,4,8,10-tétraoxaspiro (5,5)undécane, (déjà obtenu selon d'autres procédés).

Les dérivés des triols possèdent une fonction hydroxyle libre et sont hydrosolubles. Pour les dérivés des tétrols, les quatre fonctions hydroxyle interviennent dans la réaction, ce qui peut expliquer leur insolubilité dans l'eau.

Nous avons pu préciser la structure des molécules que nous avons synthétisées.

III. Nous avons recherché la relation possible entre la polymérisation des dérivés organosiliciés et le nombre de possibilités de motifs structuraux. Seul, le composé G.S., donne lieu à un phénomène de polymérisation. Or il offre plusieurs possibilités. Par ailleurs, le 1,1-Diméthyl-3-(acétoxyméthyl)-1-sila-2,5-dioxacyclopentane, dans lequel les trois fonctions hydroxyle du glycérol de départ sont bloquées,que nous avons également synthétisé, existe sous un seul motif structural : il ne se polymérise pas. Nous sommes donc en droit d'admettre que l'absence de polymérisation des triols et des tétrols résulte de l'existence d'une seule structure.

IV. Nous avons mis au point un protocole personnel d'étude biochimique en vue de la détection du rôle joué par le silicium dans l'athérosclérose expérimentale chez le lapin.

- si le traitement silicié ne modifie pas le devenir des paramètres classiques de la lipémie, il prévient l'inversion acide myristique C_{14}/acide palmitique C_{16} et l'augmentation des acides gras monoinsaturés que l'on observe au cours d'une diète cholestérolée.

- l'étude enzymologique est en accord avec les données précédentes : le dérivé silicié, administré à titre préventif, corrige la plupart des désordres métaboliques cbservés aux niveaux humoral et pariétal.

V. Sur le plan histologique, le silicium semble, d'une part, diminuer la perméabilité de la paroi artérielle vis-à-vis des lipides, d'autre part - ce qui nous paraît être le plus important - maintenir l'intégrité des fibres élastiques de la média et de la limitante élastique interne de la paroi artérielle.

Les résultats de cette étude histologique sont en accord avec ceux décrits par LOEPER (19) (57).

VI. Il nous a semblé intéressant de confronter les résultats histologiques avec ceux de la biochimie dont la variation de certains paramètres n'avait pas été soulignée, jusqu'à présent, au cours des essais de prévention de l'athérosclérose expérimentale chez le lapin.

Dans les domaines biochimique et histologique, l'effet curatif, quoique réel, nous paraît moins net. Nous rejoignons l'opinion de ROUFFY et coll. (56) selon laquelle l'athérosclérose humaine est surtout justiciable d'une thérapeutique préventive.

Le composé G.S., en dehors de ses possibilités d'application, a contribué à une meilleure connaissance de la maladie athéroscléreuse expérimentale chez l'animal.

---=---

B I B L I O G R A P H I E

---

1. VORONKOV M.G. - Composés du sicilium biologiquement actifs.
   Pure App. Chem., 1966, 13, 35. - 1969, 399.

2. KING E.J. - The estimation of silica in tissues.
   Jour. of Biol. Chem., 1928, 80, 25.

3. KING E.J. - La méthode colorimétrique du dosage du silicium.
   Bull. Soc. Chim. Biol., 1930, 12, 903.

4. GOUGET A. - Athérome expérimental et silicate de soude.
   Press. Med., 1911, 6, 27.

5. ULIANA. - Thèse Doct. Sciences, Bordeaux, 1968.

6. MIDLAND SILICONES Ltd. Brit. 749958, 1956 (Brevet).

7. BREWER S.D. et HABER C.P. - J. Amer. Chem. Soc., 1948, 70, 3888.

8. KRIEBLE R.H. et BURKHARD C.A. - Cyclic Dimethylpolymethylenedioxysilanes.
   J. Amer. Chem. Soc., 1947, 69, 2689.

9. DAVYDOVA V.P. et VORONKOV M.G. - Chem. Abstr., 1959, 53, 1116.

10. BREED L.W., HAGGERTY W.J. et HARVEY J. - J. Org. Chem. 1960, 25, 1804.

11. KRIEBLE R.H. et BURKHARD C.A. - Chem. Abstr., 1948, 42, 1877.

12. NICOU P. - Thèse Doct. Sciences, Bordeaux, 1959.

13. LAMBERT M. et NEISH A.C. - Canad. J. Res., 1950, 28, 83.

14. EGGSTEIN M. - Clin. Wschr., 1966, 44, 26.

15. VORONKOV M.G., DAVYDOVA V.P. et DOLGOV N.B. - Chem. Abstr., 1958, 52, 19912.

16. ISAACS M.L. - Sur la présence de silicium dans les tissus ; une microméthode de dosage du silicium.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1924, 6, 157.

17. KAHANE E. et ANTOINE G. - Sur la nature de la silice chez les êtres vivants : silice de constitution et silice d'interposition.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1936, 18, 1769.

18. LOEPER J. - Recherche sur le silicium dans les tissus animaux. Etude au niveau de l'aorte au cours de l'athéromatose.
Thèse Doct. Sciences, Paris, 1965.

19. LOEPER J. et LOEPER J. - Etude de l'action de composés siliciques sur l'athérome expérimental.
C.R. Séances Soc. Biol., 1967, 161, 589.

20. GENDRE Ph. - Thèse Doct. Sciences, Bordeaux, 1970.

21. HOLT P.F. et OSBORNE S. - Studies on the nature of silicosis, effect of silicic acid on connective tissue.
Brit. Jour. of Ind. Med., 1953, 10, 152.

22. BALO J. et BANGA I. - Change in elastase content of the human pancreas in relation to arteriosclerosis.
Acta Physiol. Hung., 1953, 4, 178.

23. ZEMPLENYI T., LOJDA Z. et MHROVA O. - Enzymes of the vascular wall in the rabbit. Atherosclerosis and its origin, edited by SANDLER M. & BOURNE G., Academic Press., 1963, 459.

24. ZEMPLENYI T. et MHROVA O. - Activité enzymatique de la paroi artérielle et athérogénèse. Colloque international sur l'enzymologie et l'immunologie dans l'athérosclérose. Bordeaux, 23-24 octobre 1964. Arch. Mal. Coeur, Sup. 3 Athér., 1966, 3, 147.

25. CROCKETT R., DALLOCHIO M., RAZAKA G., BRICAUD H. et BROUSTET P. - C.R. Colloques internationaux du C.N.R.S., 1967, 169, 163.

26. CROCKETT R., DALLOCHIO M., BROUSTET J.P., SAGARDILUZ J. et BRICAUD H. - Comparaison des résultats de dosage du cholestérol total par diverses méthodes appliquées directement au sérum et après extraction. Intérêt de la méthode de Ferro et Ham. Arch. Mal. Coeur et Vais., Revue de l'Athérosclérose, 1963, 2, 55.

27. FERRO P. et HAM A. - Rapid determination of total and free cholesterol in serum. Am. J. Clin. Path., 1960, 33, 545.

28. CONNERTY H., BRIGGS A. et EATON E. - Simplified determination of the lipids components of the serum. Clin. Chem., 1961, 7, 37.

29. BURSTEIN M. et SAMAILLE J. - Sur une nouvelle méthode de dosage des bétalipoprotéines du sérum. Sem. Hôp. Paris, Path. et Biol., 1958, 8, 541.

30. KATZ I. et KEENEY M. - Biochim. Biophys. Acta., 1967, 144, 102.

31. FOLCH J., LEES M. et STANLEY G.H.S. - Jour. of Biol. Chem., 1957, 226, 497.

32. CREECH B.G. - J. Am. Oil Chem. Soc., 1961, 38, 540.

33. NAPIAS C. - Thèse Doct. Sciences, Bordeaux, 1970.

34. STAHL E. - Thin - Layer Chromatography.

35. VASKOVSKII V.E. et KOSTETSKII E.Y. - J. Lip. Res., 1968, 9, 396.

36. METCALFE L.D. et SCHMITZ A.A. - Anal. Chem., 1961, 33, 363.

37. ASTIER Th. - Thèse Doct. Sciences, Bordeaux, 1971.

38. BIZERTE G., SEZILLE G., BERTRAND M. et JAILLARD J. - Ann. Biol. Clin., 1964, 22, n° 7-9, 861.

39. DEMASSIEUX S. - Thèse Doct. Sciences, Bordeaux, 1969.

40. CROCKETT R., RAZAKA G., DALLOCHIO M. et BRICAUD H. - Détermination auto-analytique des activités phosphatasiques acides et alcalines sans changement de manifold.
Comm. Soc. Ph. Bordeaux, 21 décembre 1966.

41. FISHMAN W.H., SPRINGER B. et BRUNETTI R. - Application of an improved glucuronidase assay method to the study of human blood glucuronidase.
Jour. of Biol. Chem., 1948, 173, 449.

42. CROCKETT R., RAZAKA G. et GRENIE D. - Détermination autoanalytique de quelques activités enzymatiques chez l'homme et l'animal. Organisation, automatisation des laboratoires. Biologie perspective. Colloque Pont à Mousson, 1970, 1, 189.

43. WROBLEWSKI F. et La DUE J. - Lactic deshydrogenase activity in blood.
Pro. Soc. Exp. Biol. Med., 1955, 90, 210.

44. KIRK J.E., WANG I. et BRANDSTRUP N. - The glucose - 6 phosphate and 6 - phosphogluconate deshydrogenase activities of arterial tissue in individuals of various ages.
J. Gerontol., 1959, 14, 25.

45. STROMINGER J.L. et LOWRY O.H. - The quantitative histochemistry of brain IV Lactic, Malic and Glutamic deshydrogenase.
Jour. of Biol. Chem., 1955, 213, 635.

46. ROSALKI S.B. - Pro. Assoc. Clin. Biochem., 1966, 4, 23 - J. Lab. Clin. Med., 1967, 69, 696.

47. SCEBAT L., RENAIS J. et LENEGRE J. - Arch. Mal. Coeur et Vais., 1961, 54, 721.

48. CROCKETT R., RABAUD M., RAZAKA G., GRENIE D., DALLOCHIO M. et BRICAUD H. - Etude expérimentale des isoenzymes de la L.D.H. , de la paroi aortique normale et pathologique.
Comm. au cercle de l'Athérosclérose, Paris, décembre 1970.

49. WALKER P.G., MARY E., WOOLLEN et DOREEN PUGH - N - Acetyl - glucosaminidase activity in serum during pregnancy.
J. Clin. Path., 1960, 13, 353.

50. WAREMBOURG H., BIZERTE G., LEKIEFFRE J. et SEZILLE G. Press. Med., 1963, 71, 2184.

51. BERTRAND M. - Etude des acides gras par chromatographie en phase gazeuse.
Thèse Mèdecine, Lille, 1964.

52. SCHRADE W., BIEGLER R. et BOEHLE T. - Fatty acid distribution in the lipid fractions of healthy persons of different age, patients with atherosclerosis and patients with idiopathic hyperlipidemia.
J. Atherosclerosis Res., 1961, 1, 47.

53. SCHRADE W., BOEHLE T., BIEGLER R. et HARMUTH E. - Lancet, 1963, 1, 285.

54. FOLIN O. et CIOCALTEU J. - Jour. of Biol. Chem., 1927, 73, 627.

55. LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J. et FARR A.L. - Jour. of Biol. Chem., 1951, 193, 265.

56. ROUFFY J. et LOEPER J. - Cholestérol et Athérosclérose.
G. Med. de France, 1970, 77, n° 32, 6881.

57. LOEPER J., LOEPER J. et BEURLET J. - Essai de prévention de l'athérome expérimental avec des

composés siliciques.
Arch. Mal. Coeur et Vais., Sup.a, 1968, 1, 78.

58. BOISSIER J.R. - Résorption et élimination du silicate de sodium administré par voie buccale.
Path. et Biol., 1956, n° 16.

59. SCHEFFLER L., SARTORY A. et PELLISSIER P. - Sur l'emploi de silicate de soude en injection intraveineuse ; effets physiologiques et thérapeutiques.
C.R. Acad. Sc., 1920, 171, 416.

60. MONCEAUX R.H. - Etude biologique et pharmacologique du silicium.
Prod. Pharm., 1960, 15, 99.

61. VOINAR A.I. - Rôle biologique des microéléments dans l'organisme des animaux et de l'homme.
Edit. Ecole Supérieure, 1960, M, 389.

62. HOLZAPFEL L. et KERNER-ESSER I. - Naturwiss., 1943, 31, 386.

63. HOLZAPFEL L. et ENGEL W. - Naturwiss., 1949, 36, 375.

64. POLICARD A. - Press. Med., 1947, 19, 213.

65. HOLT P.F. et YATES D.M. - Biochem. J., 1953, 54, 300.

66. ZILVERSMIT D.B., SWEELY C.C. et NEWMAN H.A.I. - Fatty acid composition of serum and aortic intimal lipids in rabbits fed low and high cholesterol diets.
Circ. Res., 1961, 9, 235.

67. AUMONIER P. - Contributions à l'étude analytique du silicium. Applications biologiques.
Thèse Doct. Pharmacie, Bordeaux, 1962.

68. POLET C. - Silice et calcification artérielle.
Thèse Doct. Méd., Paris, 1956.

69. DALLOCHIO M., CROCKETT R., GANDJI F.A., BRICAUD H., PAUTRIZEL R. et BROUSTET P. - Anticorps anti-aorte et lésions aortiques par injections répétées de broyats aortiques (Etude chez le

lapin).
Société Française de l'Athérosclérose et des Artériopathies périphériques, Paris, janvier 1967.

70. SCEBAT L., RENAIS J., IRIS L., GROULT N. et LENEGRE J. - Lésions artérielles produites chez le lapin par des injections de broyat d'aorte homologue et hétérologue.
Revue de l'Athérosclérose et des Artériopathies périphériques, 1966, 1, 56.

*

EDITIONS BERGERET-2, rue Bergeret-BORDEAUX. Tél. 91.12.59

TABLE DES MATIERES

Pages

INTRODUCTION 1

PREMIERE PARTIE -

ETUDE D'UN ALCOXYSILANE dérivé du glycérol (Produit G.S.) 1,1-Diméthyl-4-hydroxy-1-sila-2,6-dioxacyclohexane 5

CHAPITRE I - SYNTHESE 7

I - Synthèse à partir de l'hexaméthylcyclotrisilazane 7
II - Synthèse à partir du diméthyldichlorosilane 11

CHAPITRE II - ETUDE STRUCTURALE 13

I - Spectroscopie infrarouge 14
II - Résonnance magnétique nucléaire 14
III - Spectrométrie de masse 16
IV - Conclusion de l'étude structurale 19

CHAPITRE III - ETUDE DE L'HYDROLYSE 21

I - Solubilité 21
II - Hydrolyse 22

CHAPITRE IV - CONCLUSION DE L'ETUDE DU DERIVE GLYCEROSILICIE 43

DEUXIEME PARTIE -

ETUDE DE QUELQUES COMPOSES ORGANOSILICIES HYDROSOLUBLES DERIVES DE POLYOLS 45

CHAPITRE I - CONDENSATIONS DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE AVEC DIFFERENTS POLYOLS 47

I - Condensation de l'hexaméthylcyclotrisilazane avec l'hexane triol - 1,2,6 47
II - Condensation de l'hexaméthylcyclotrisilazane avec la triéthanolamine 51
III - Condensation de l'hexaméthylcyclotrisilazane avec le 2-amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propanediol (dérivé tris) 55
IV - Condensation de l'hexaméthylcyclotrisilazane avec l'érythritol (butanététrol) 58

Pages

V - Condensation de l'hexaméthylcyclotrisilazane avec le pentaérythriol 63

CHAPITRE II - ETUDE DU PRODUIT DE CONDENSATION DE L'HEXAMETHYLCYCLOTRISILAZANE AVEC LE GLYCEROL MONOACETYLE (EN POSITION 1).... 67

TROISIEME PARTIE -

ESSAIS D'APPLICATION PHARMACODYNAMIQUE DANS L'ATHEROME EXPERIMENTAL DU LAPIN 75

CHAPITRE I - MATERIEL ET METHODES 79

I - Matériel 79
II - Protocole expérimental 80
III - Etude histologique 95

CHAPITRE II - RESULTATS ET DISCUSSIONS DE L'ETUDE BIOCHIMIQUE 97

I - Paramètres lipidiques 97
II - Etude enzymologique 115

CHAPITRE III - RESULTATS ET DISCUSSION DE L'ETUDE HISTOLOGIQUE 125

I - Résultats 125
II - Discussion 130

CONCLUSION GENERALE 133

BIBLIOGRAPHIE 137

EDITIONS BERGERET - 2,rue Bergeret - BORDEAUX. Tél. 91.12.59

DEUXIME THESE

Proposition donnée par la Faculté

LA CHIMIOTHERAPIE ANTILEPREUSE